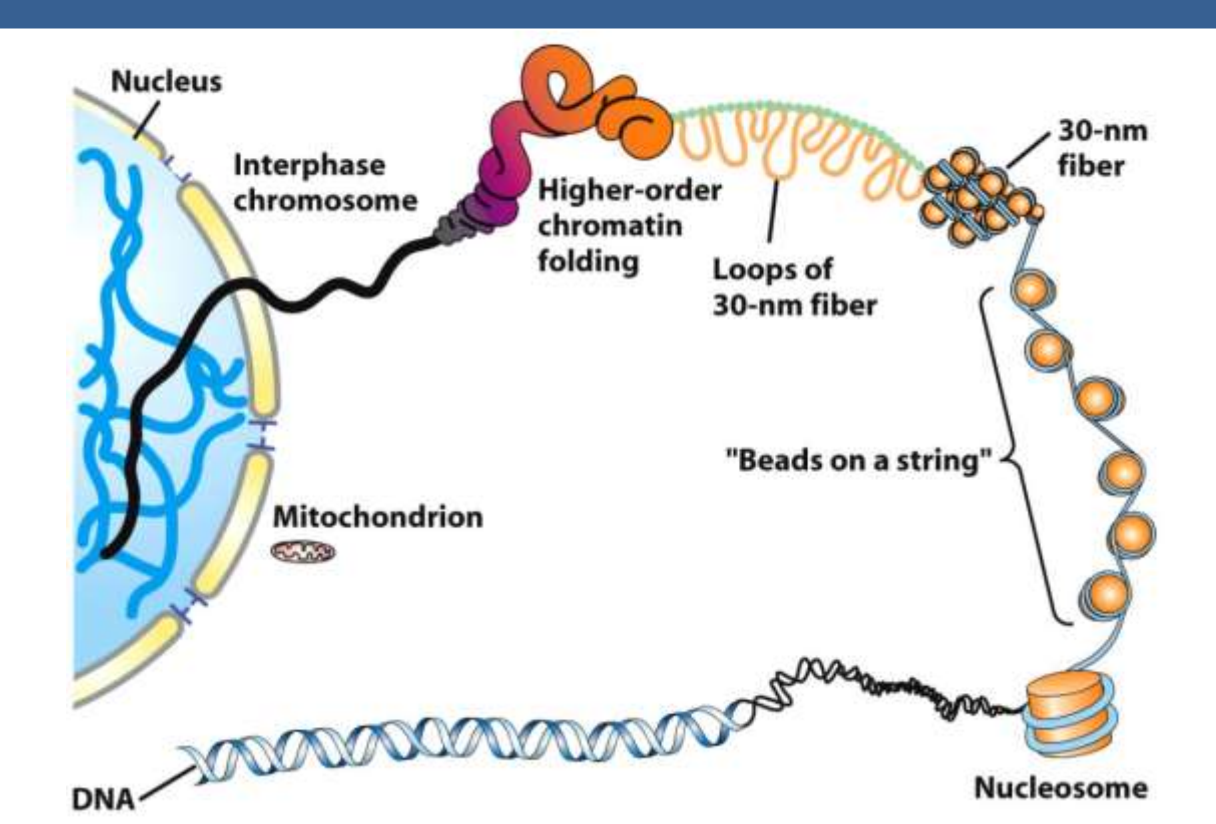
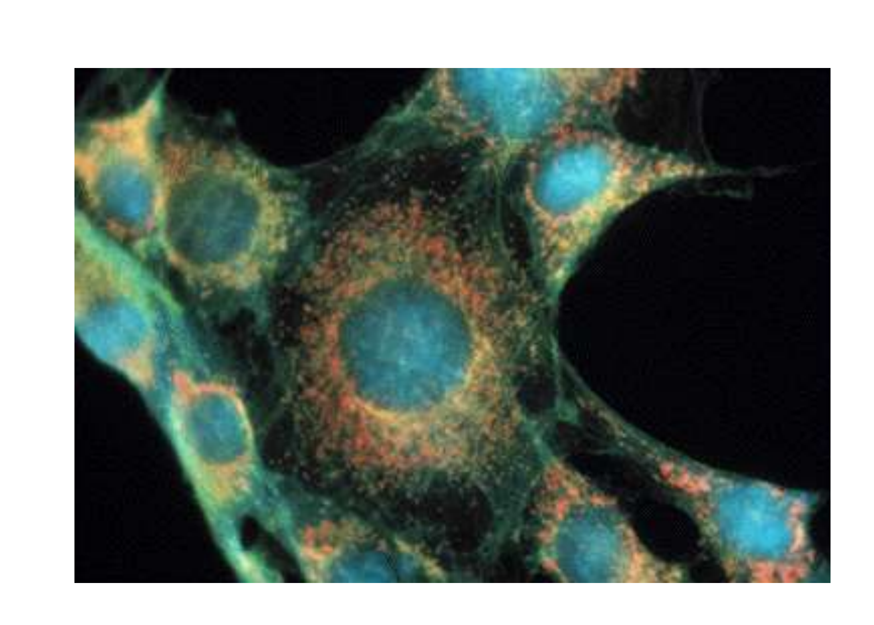
第9章　细胞核与染色质



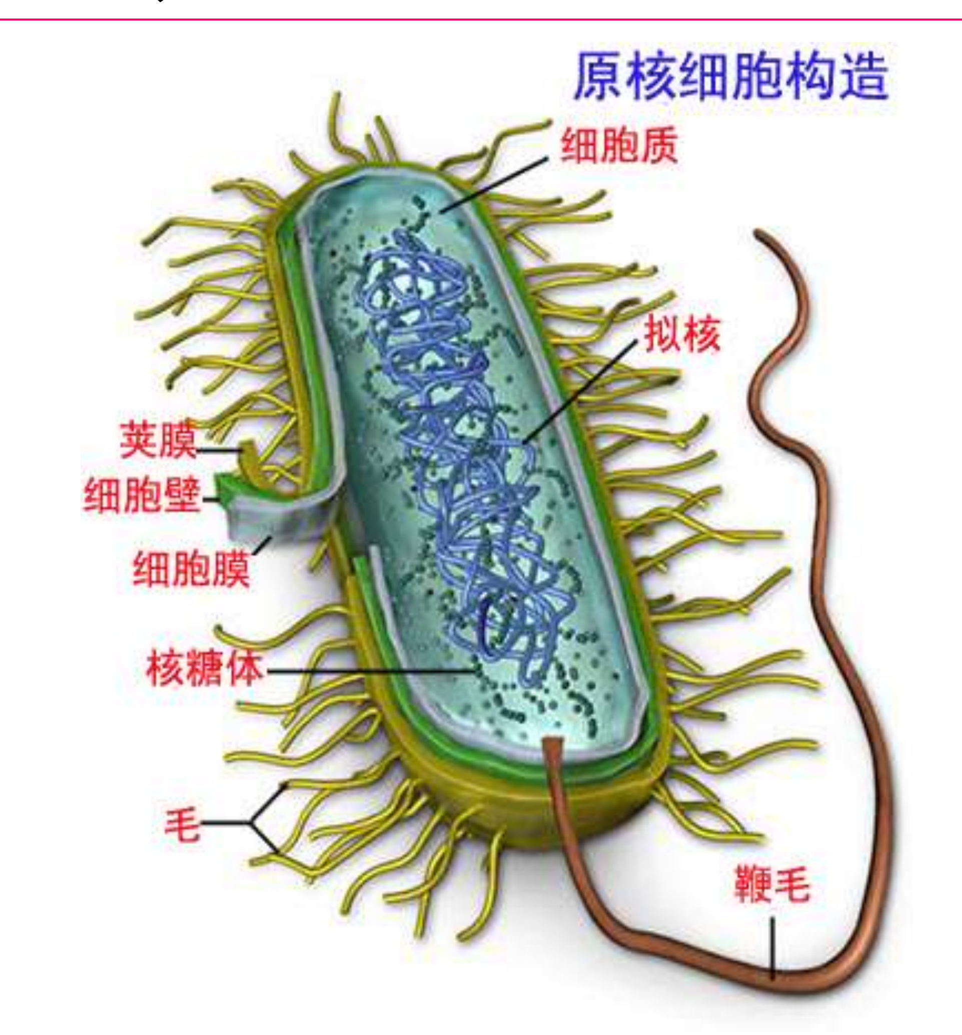
Nucleus
Interphase chromosome
Higher-order chromatin folding
Loops of 30-nm fiber
30-nm fiber
Mitochondrion
"Beads on a string"
DNA
Nucleosome

细胞核概述

真核细胞中，除高等植物成熟的筛管和哺乳类成熟的红细胞外，都有细胞核。
在原核细胞中，DNA集中，但无核膜包围，故称拟核（nucleiod）。



真核细胞**大多**具细胞核



原核细胞的拟核

细胞核特征

- 分布：所有真核细胞（高等植物韧皮部成熟的筛管细胞和哺乳动物成熟的红细胞除外）
- 数量：通常一个，成熟的筛管和红细胞（0）、肝细胞、心肌细胞(1-2）、破骨细胞(6~50）、骨骼肌细胞(数百)、植物毡绒层细胞(2~4)。

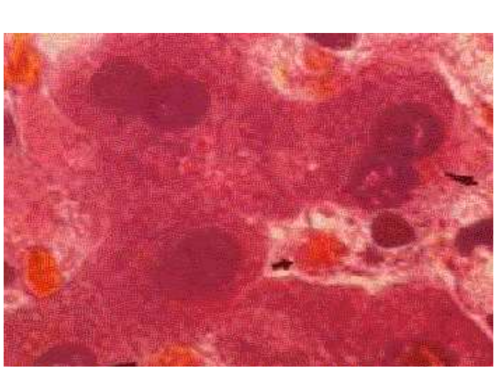
哺乳类成熟红细胞无细胞核

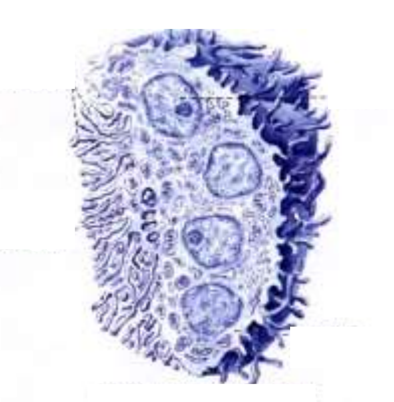




植物成熟筛管细胞无细胞核

肝细胞和心肌细胞可有双核





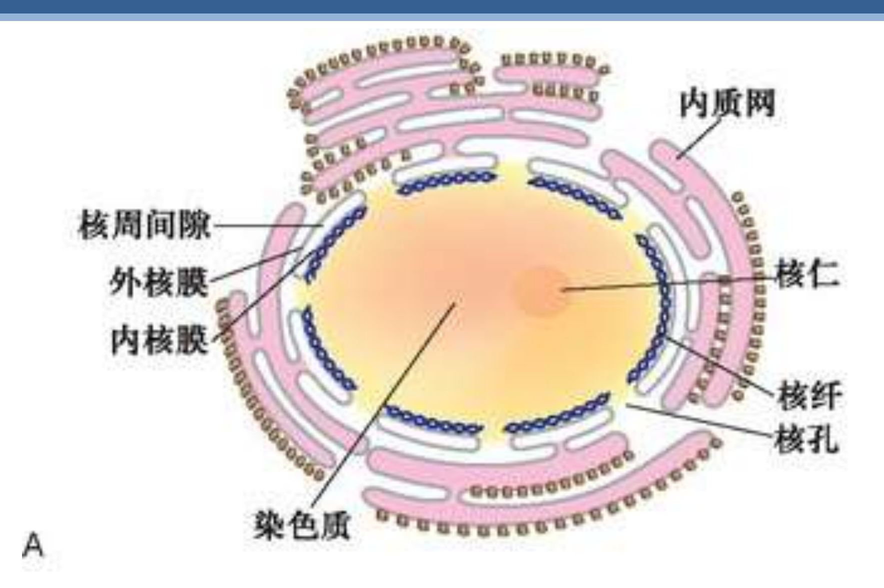
破骨细胞可有6-50个细胞核

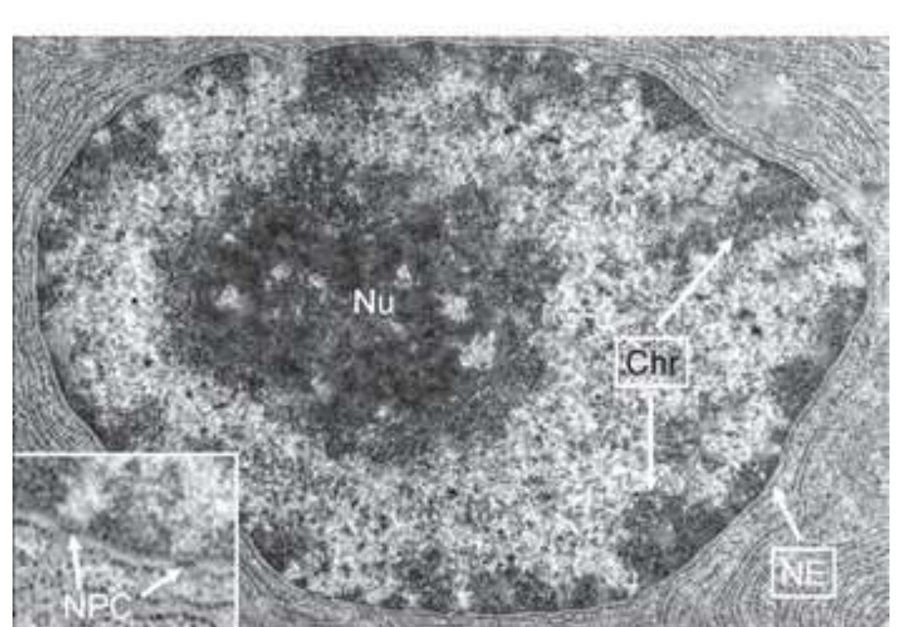
细胞核特征

- 分布：所有真核细胞（高等植物韧皮部成熟的筛管细胞和哺乳动物成熟的红细胞除外）
- 数量：通常一个，成熟的筛管和红细胞（0）、肝细胞、心肌细胞(1-2）、破骨细胞(6~50）、骨骼肌细胞(数百)、植物毡绒层细胞(2~4)。
- 大小：占总体积的10%，高等动物一般5-10 um，高等植物5-20 um，低等植物1-4 um。
- 形态：一般呈圆球状与卵圆形，随物种和细胞类型不同有很大变化。
- 组成：核被膜、核纤层、染色质、核仁及核体组成。
- 功能：①遗传 ②发育。

本章主要内容

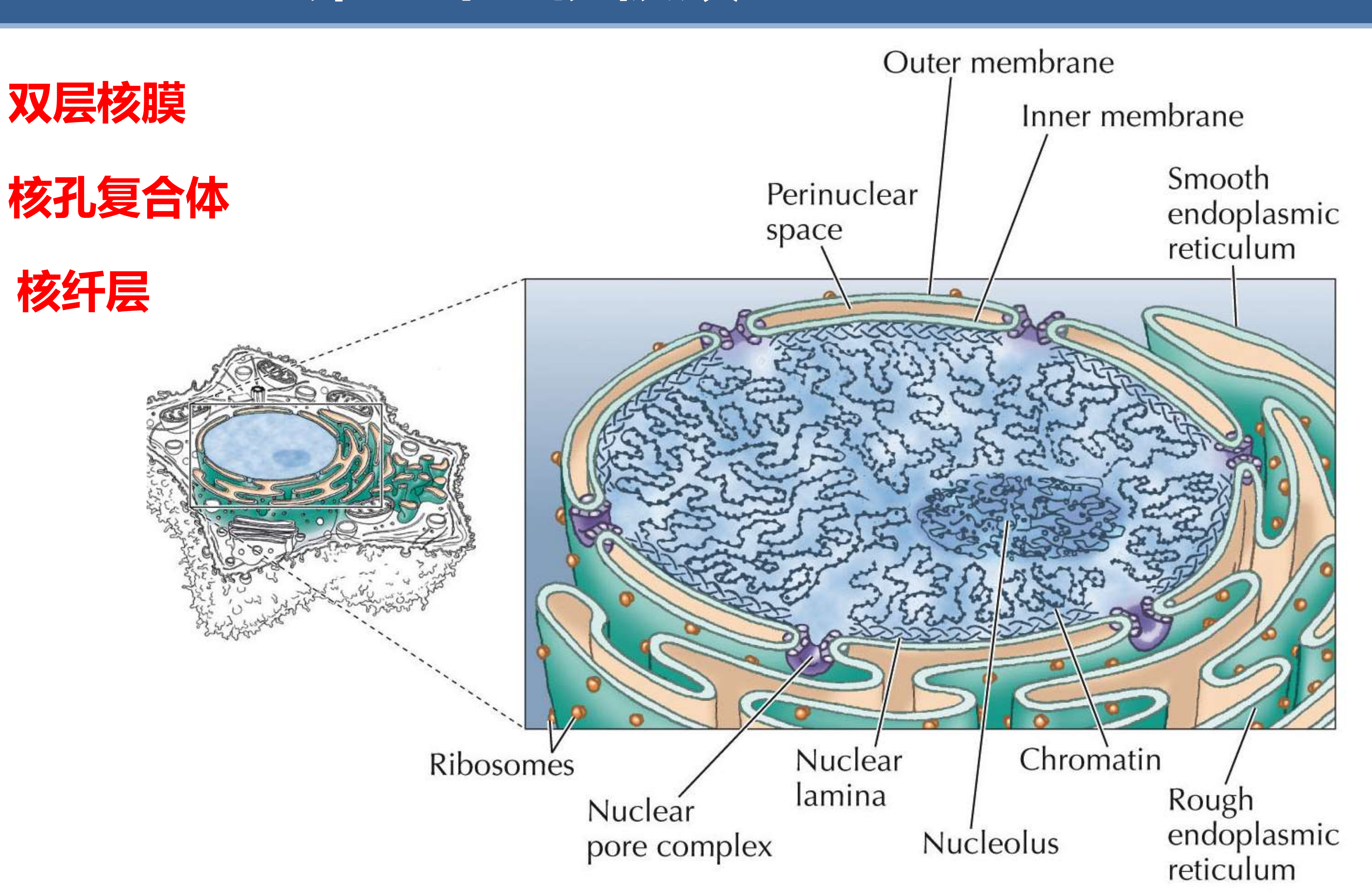
- □*核被膜
- □*染色质
- □染色质的复制与表达
- □*染色体
- □*核仁与核体
- □核基质

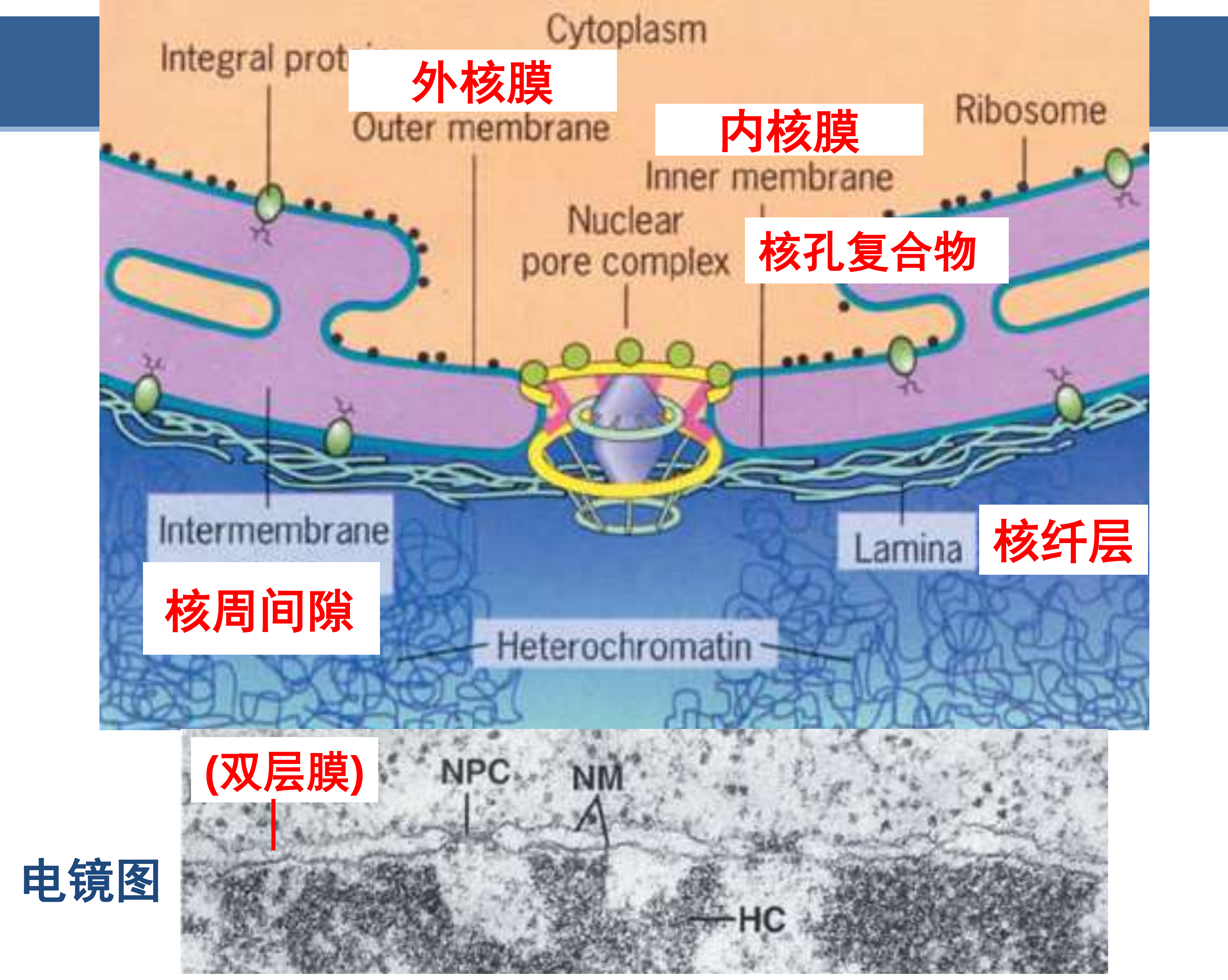




第一节 核被膜

核被膜结构三部分构成
- 双层核膜
- 核孔复合体
- 核纤层





Cytoplasm
外核膜
Outer membrane
内核膜
Inner membrane
Ribosome
Nuclear
pore complex
核孔复合物
Intermembrane
核周间隙
Lamina
核纤层
Heterochromatin
(双层膜)
NPC
NM
HC
电镜图

（一）核膜结构

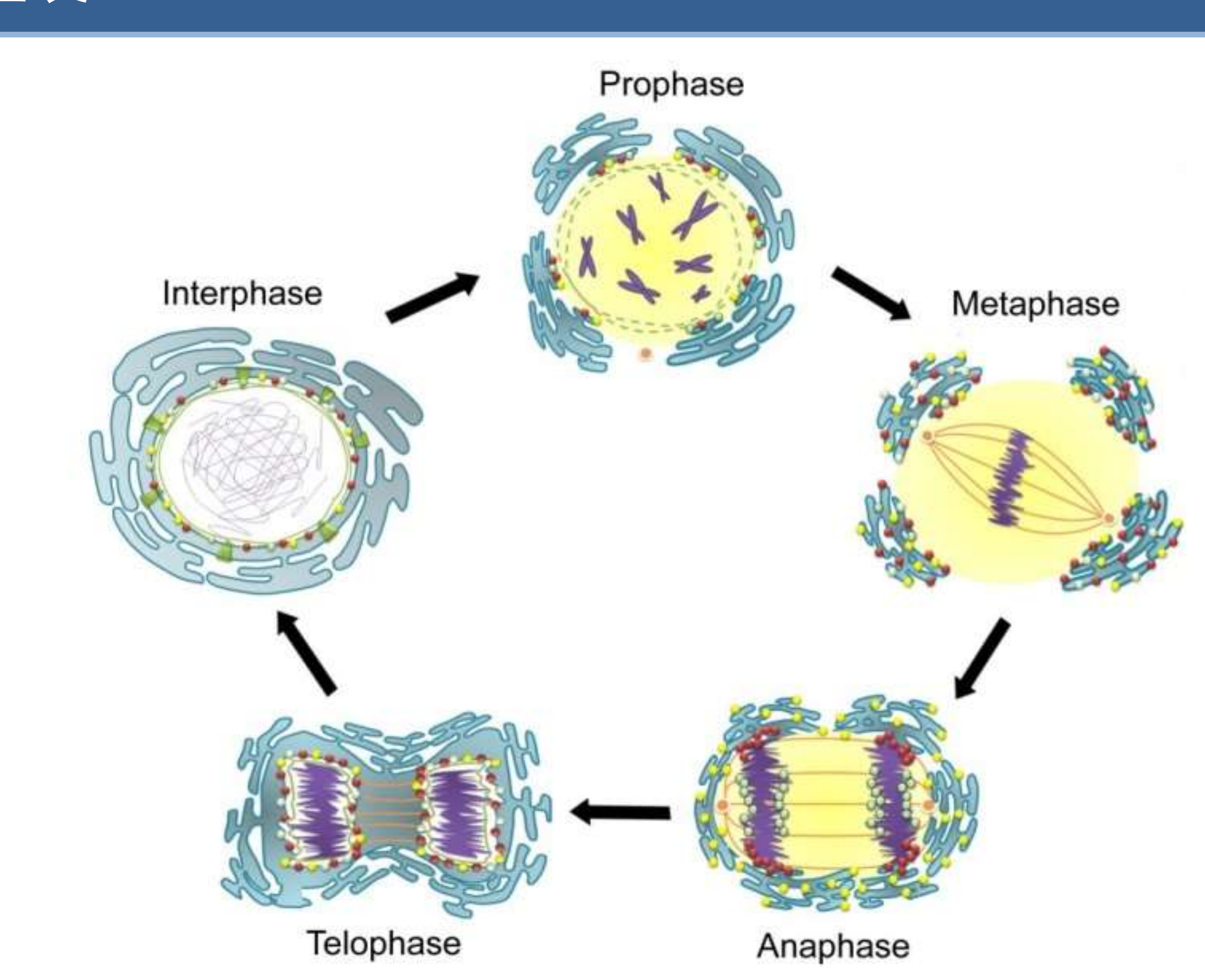
- 核被膜由内外两层平行但不连续的单位膜构成。
- 外核膜胞质面附有核糖体，与糙面内质网相联。核周隙与内质网腔相通，外核膜是内质网的一部分。
- 核被膜内层光滑，内表面紧贴一层致密的核纤层；可支持核膜，并与染色质及核骨架相连。
- 核周间隙宽20-40nm，腔内电子密度低，一般不含固定的结构，与内质网腔相通。
- 双层核膜在某些部位相互融合，形成环状开口，称为核孔。在核孔上镶嵌着一种复杂的结构叫做核孔复合体。

（二）核膜的崩解与组装

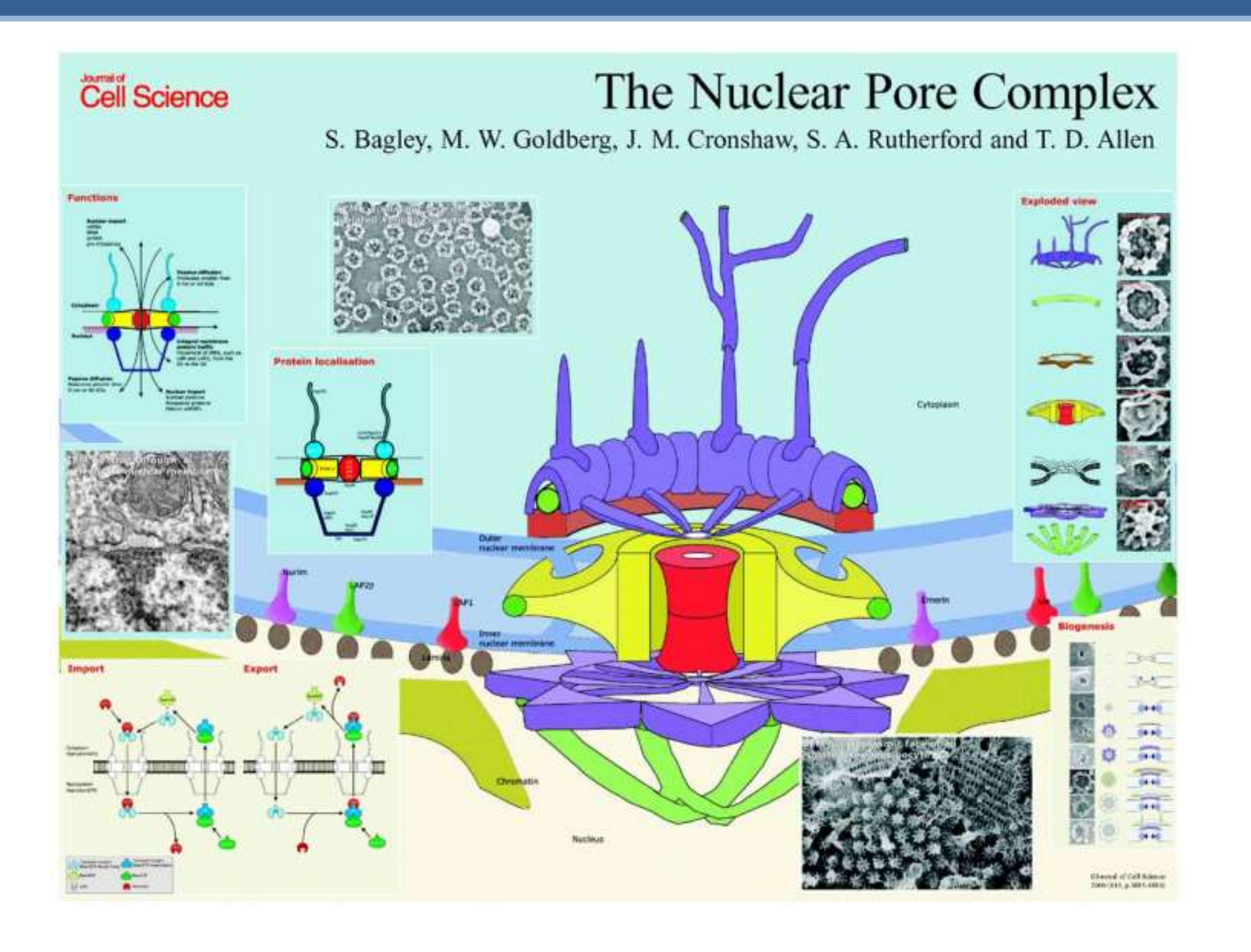
核膜的动态特点：

- 在真核细胞中，核膜伴随着细胞周期进行有规律的解体与重建。
- 分裂期：双层核膜崩解成单层泡膜，核孔复合体解体，核纤层解聚；
- 分裂末期：核被膜开始围绕染色体重新形成。

间期存在，分裂期解体

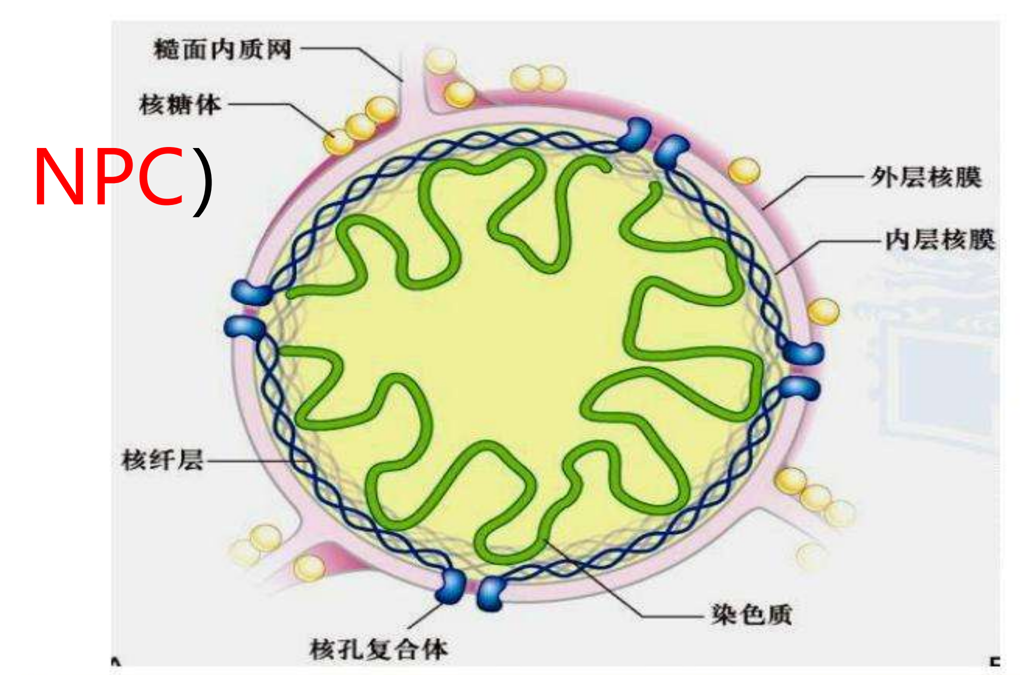


二、核孔复合体

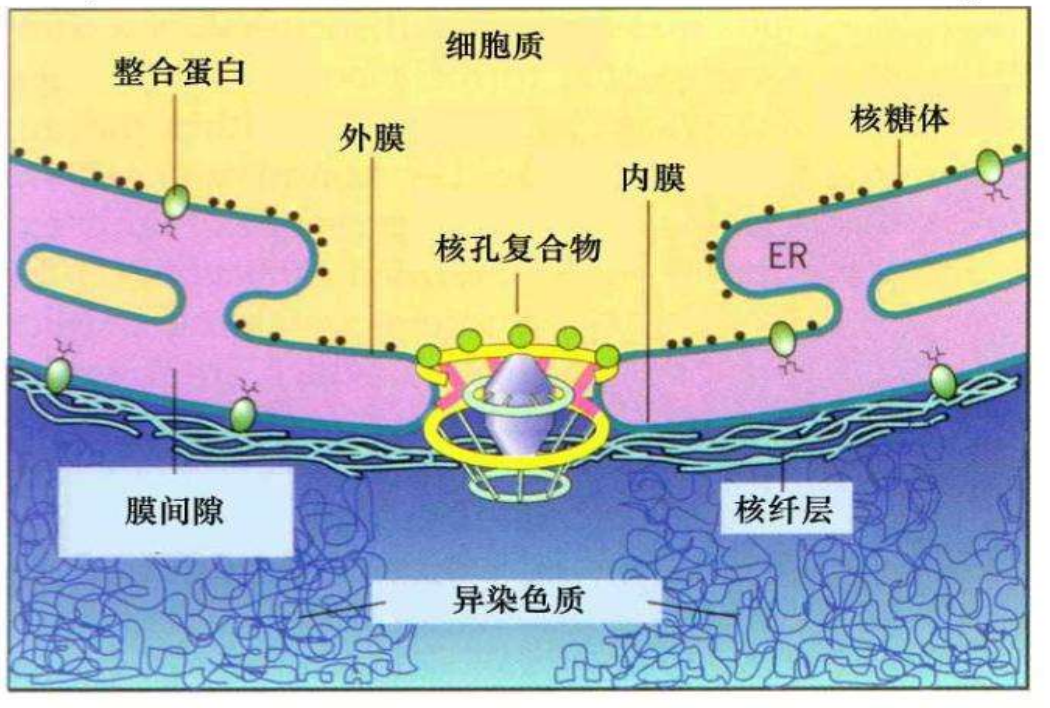


Journal of Cell Science
The Nuclear Pore Complex
S. Bagley, M. W. Goldberg, J. M. Cronshaw, S. A. Rutherford and T. D. Allen
Functions
Protein localisation
Exploded view
Cytoplasm
Outer nuclear membrane
Inner nuclear membrane
Emerin
Lamina
Biogenesis
Import
Export
Chromatin
Nucleus

二、核孔复合体（nuclear pore complex，NPC）



- 核孔复合体：是真核细胞间期细胞核上普遍存在的结构，镶嵌在内、外核膜融合形成的核孔上，由蛋白质构成，是离子、小分子及生物大分子进出细胞核的物质运输通道。

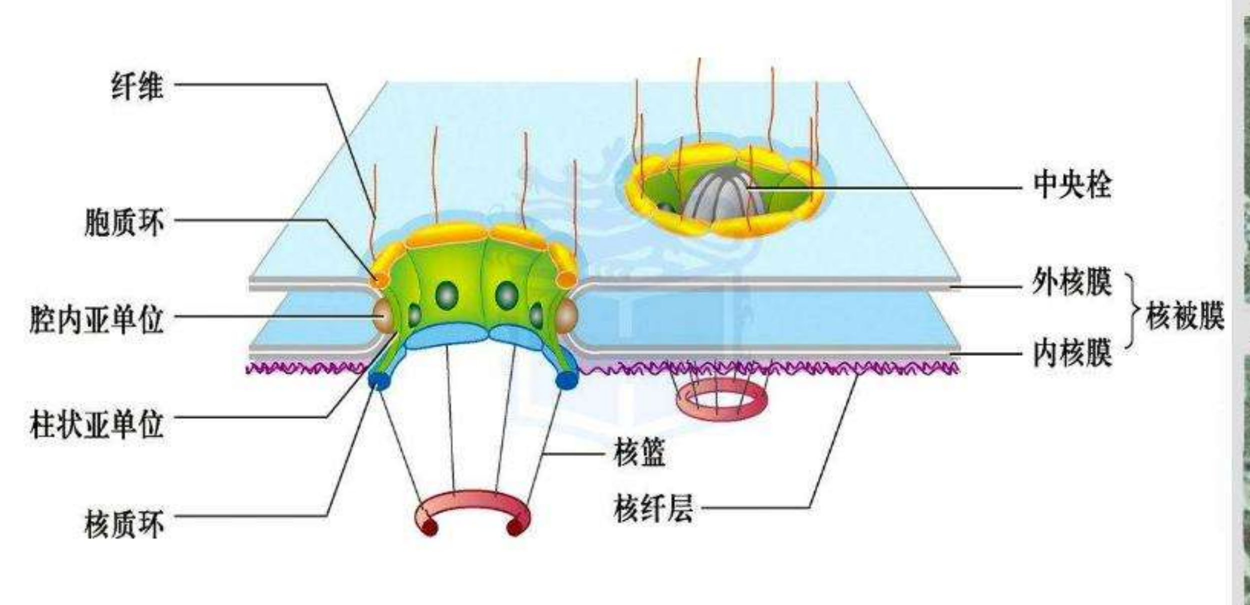


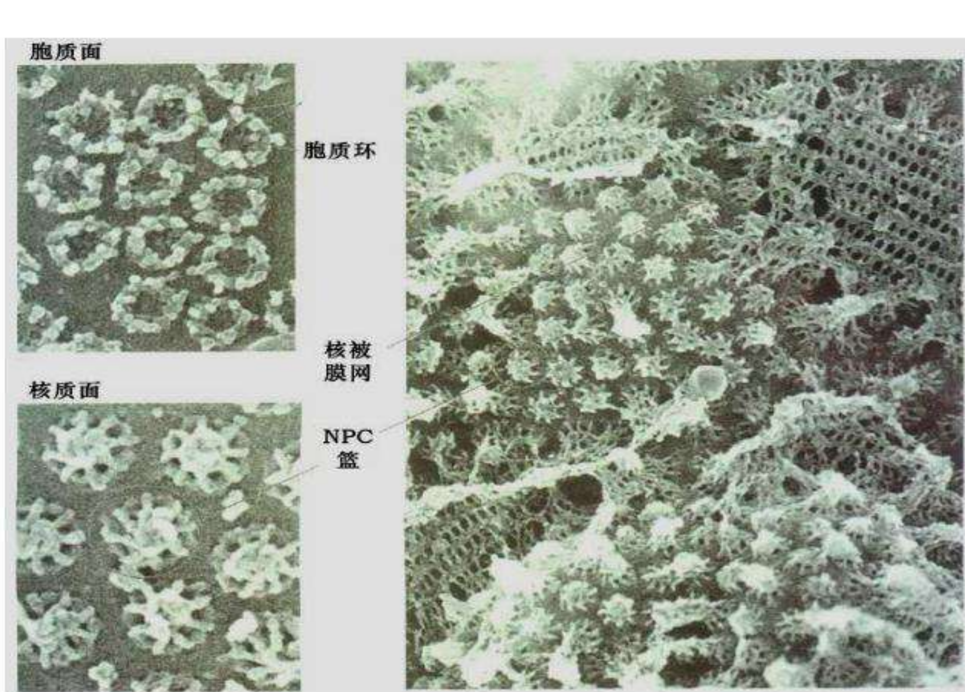
➢ 核孔复合体由4种结构组分构成：

①**胞质环（外环）**：位于核孔边缘的胞质面一侧。环上有8条短纤维对称分布，并伸向胞质。

②**核质环（内环）**：位于核孔边缘的核质面一侧。环上也对称连有8条细长的纤维，向核内伸入50-70nm，在纤维的末端形成一个直径为60nm的小环，小环由8个颗粒构成。

- 这样，整个核质环就象一个"捕鱼笼"（fish-trap）样结构。

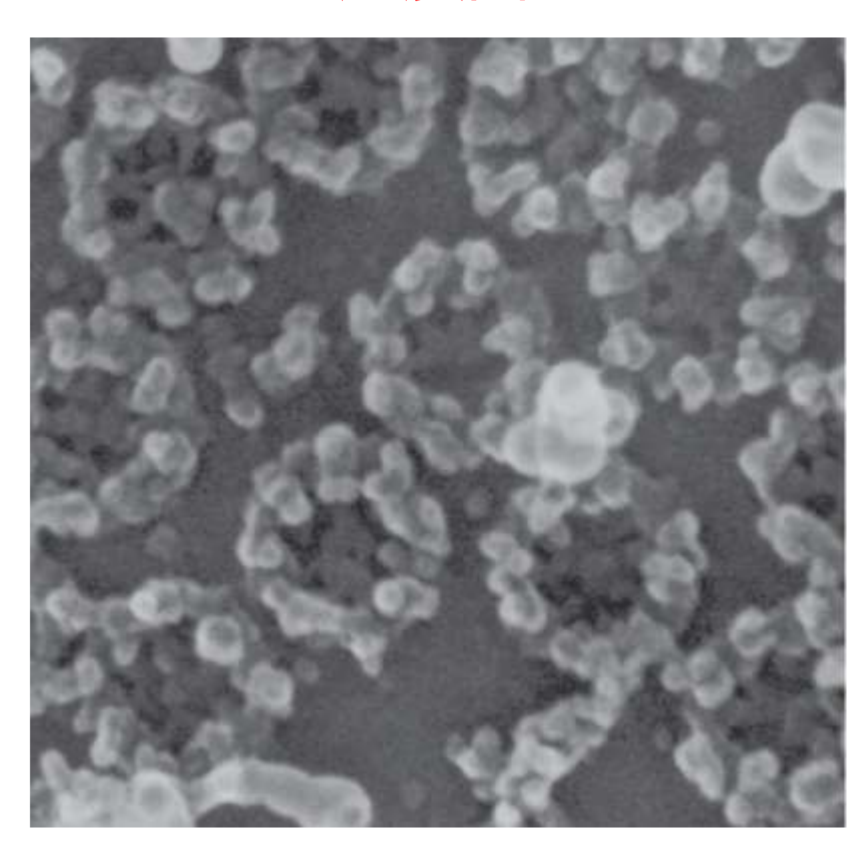




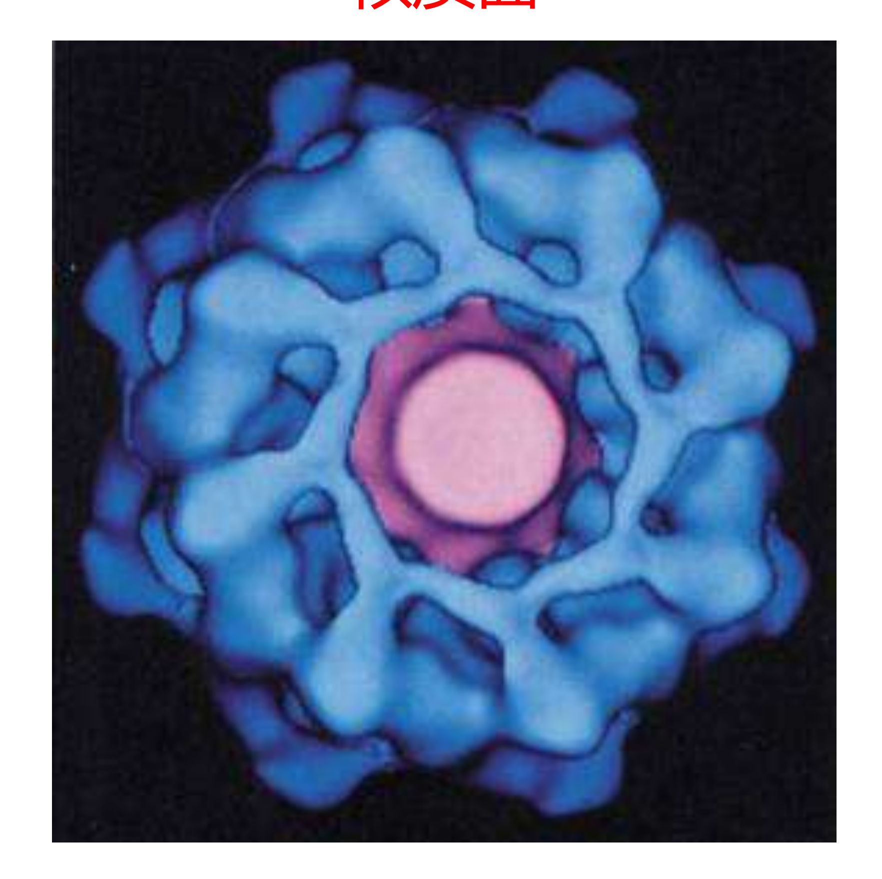
（一）结构模型—— “fish-trap”(鱼笼)

在电镜下观察，核孔是呈圆形或八角形，现在一般认为其结构如fish-trap（鱼笼）。

胞质面



核质面

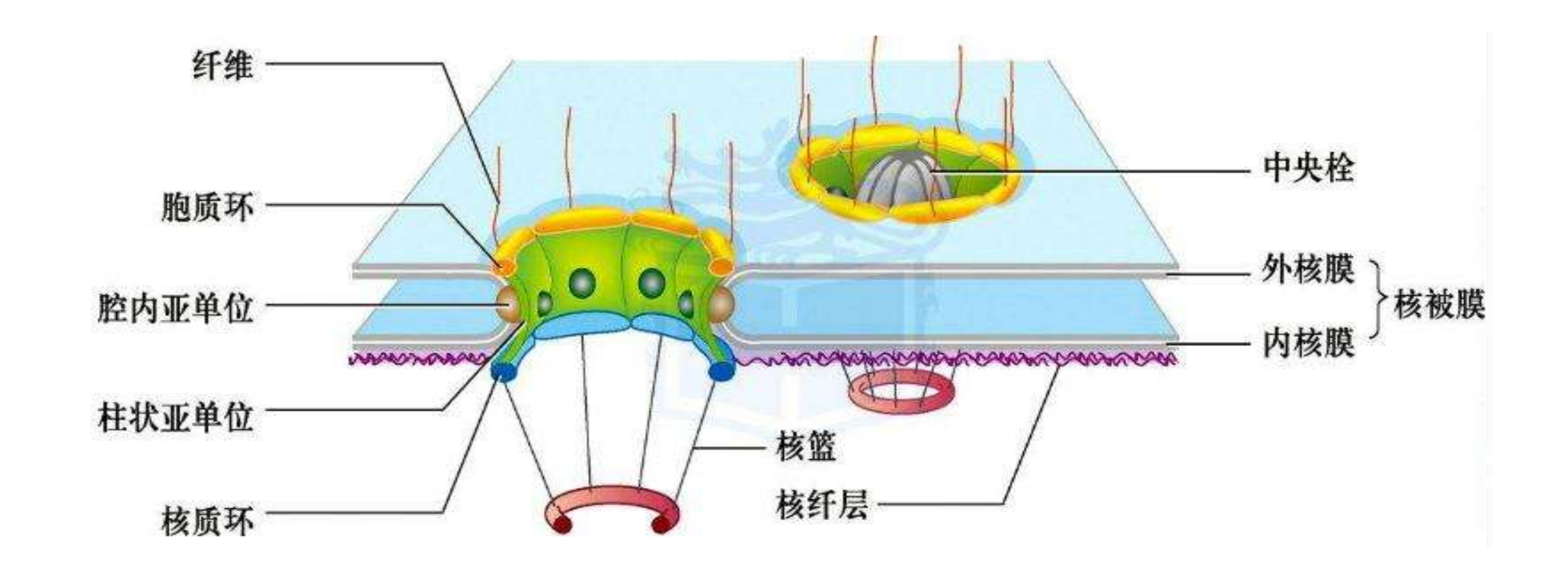


➢ 核孔复合体由4种结构组分构成：

③**辐：** 由核孔边缘伸向中心，呈辐射状八重对称。

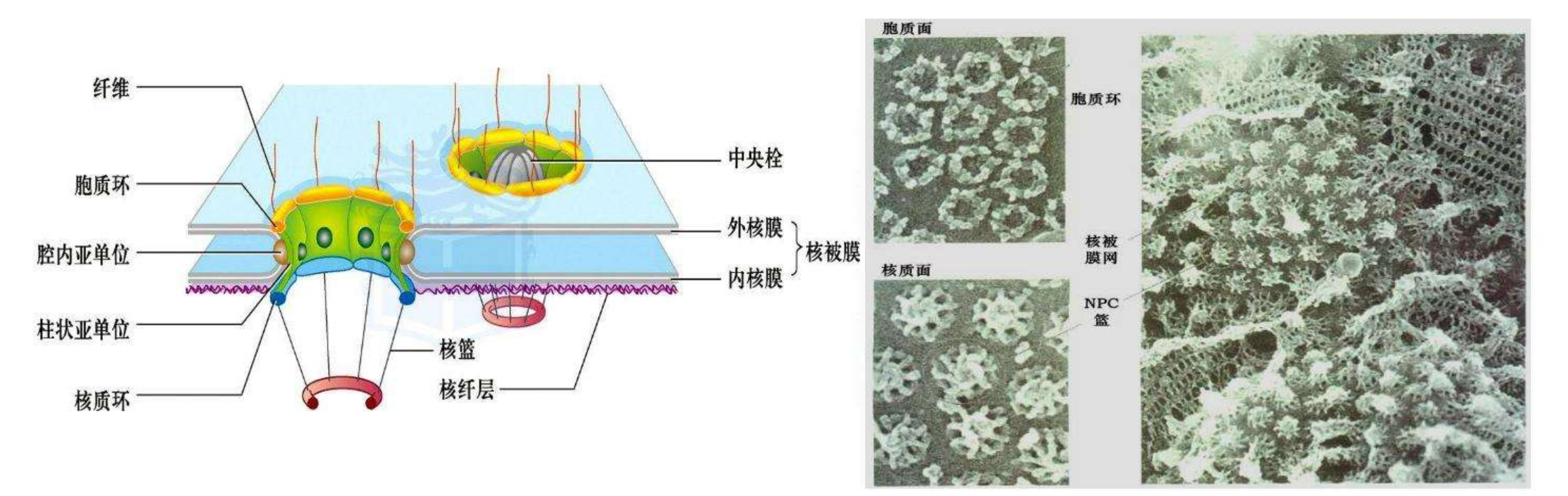
- 辐由外向内又进一步区分为腔内亚基、柱状亚基和环带亚基3个结构域。

④**栓（中央栓）：** 位于核孔的中心，呈颗粒状或棒状。它在核与质交换中发挥作用。



➢ 核孔复合体由4种结构组分构成：

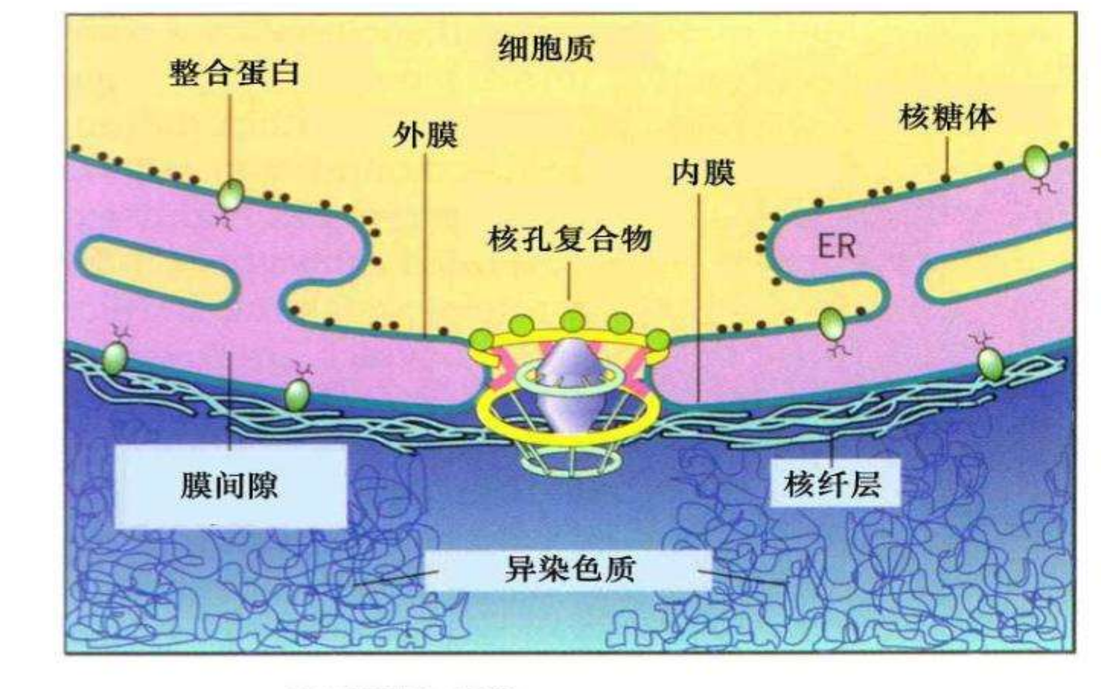
- 由上述结构模型可见，整个核孔复合体在核膜内、外两侧的结构是不对称的，这与核孔复合体的功能的不对称性相一致。



二、核孔复合体（NPC）

（二）组成成分

- 核孔复合体主要由蛋白质——核孔蛋白组成。
- 推测核孔复合体可能含有30多种、1000多个蛋白质分子。



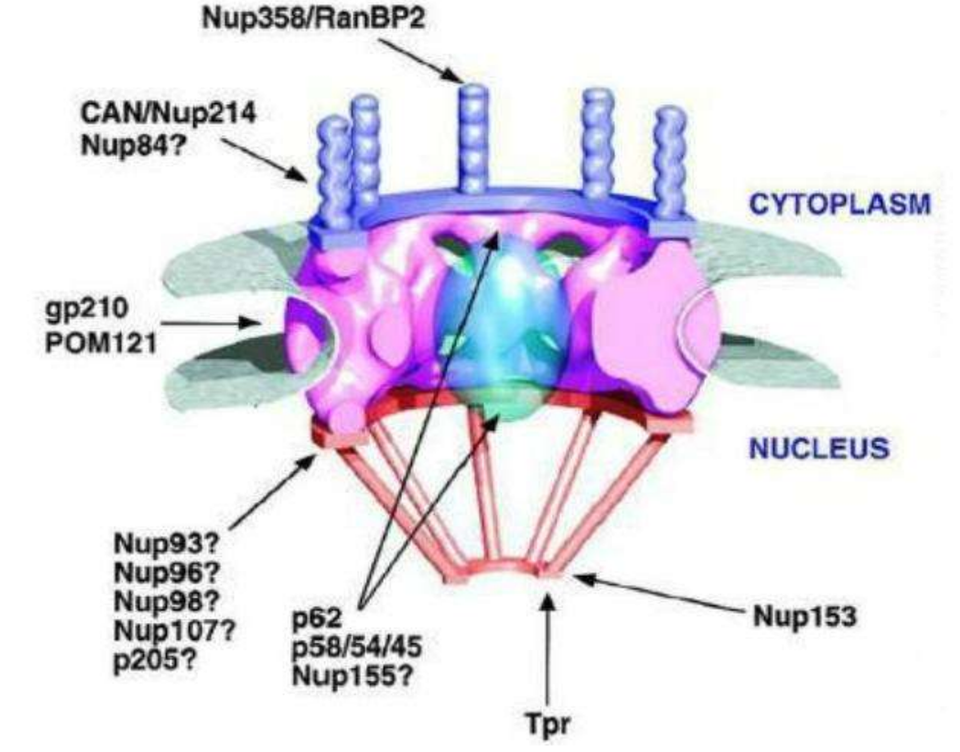


表 9-1　已知的脊椎动物核孔复合体的蛋白质成分简表

蛋白质名称	对应的 NPC 结构	功能与特性
gp210	孔膜区，跨膜蛋白	能与 ConA 结合；N 端位于膜周间隙，C 端将 NPC 锚定在核膜上
Pom121	孔膜区，跨膜蛋白	能与 WGA 结合；C 端有 FXFG 重复序列
Nup153	“捕鱼笼”	能与 WGA 结合；N 端有 FXFG 重复序列；具有锌指结构，能够结合 DNA（在体外）
Nup180	胞质环及其纤维	不能与 WGA 结合；其抗体对核质交换没有抑制作用；介导 NPC 与胞质骨架的联系
Nup155	核质面与胞质面	不能与 WGA 结合
p62	中央颗粒	能与 WGA 结合；具有 FXFG 重复序列；其抗体对核质交换有抑制作用；能与 p58，p54，p45 形成 p62 复合体；与酵母的 Nsp1p 同源
p58		具有 FG 重复序列；与酵母的 Nup49p 同源
p54		具有 FG 重复序列；与酵母的 Nup57p 同源
p45		具有 FG 重复序列
Nup84（大鼠）或 Nup88（人）	胞质环纤维	与 Nup214/CAN 结合，并将其连接到核孔复合体上
Nup214/CAN	胞质环纤维	能与 WGA 结合
Nup107		与酵母的 Nup84p 同源
Nup98		具有 GLFG 重复序列；与酵母的 Nup116p 同源
Nup155		与酵母的 Nup170 同源
p260/Tpr	胞质环纤维	不能与 WGA 结合

目前已知的核孔蛋白可分为两类：

（1）**结构性跨膜蛋白：其代表是gp210**，位于孔膜区。其作用：

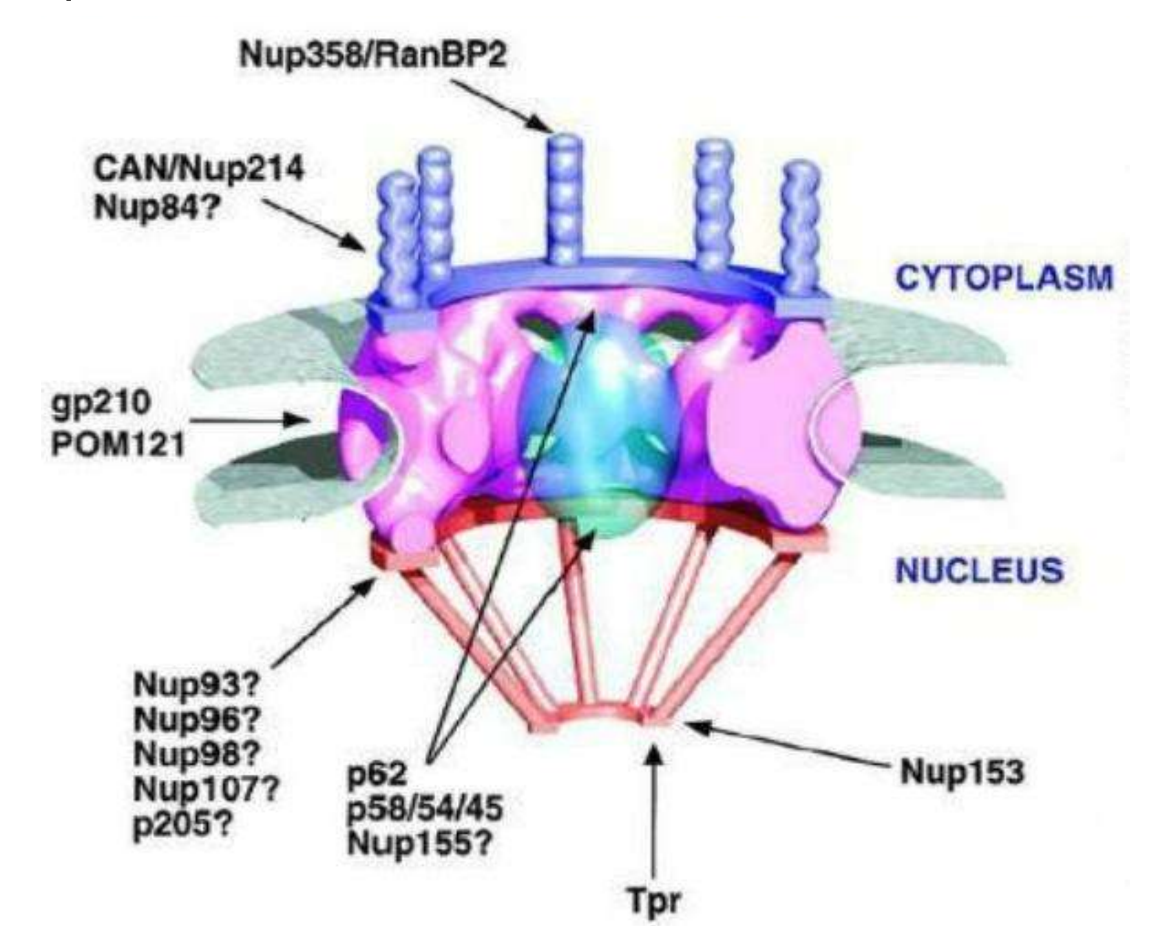
①介导NPC与核膜的连接，即把NPC锚定在孔膜区；

②在内、外核膜融合形成核孔中发挥作用；

③在核、质的物质交换中起一定作用。

（2）**功能性核孔蛋白：其代表为p62**。

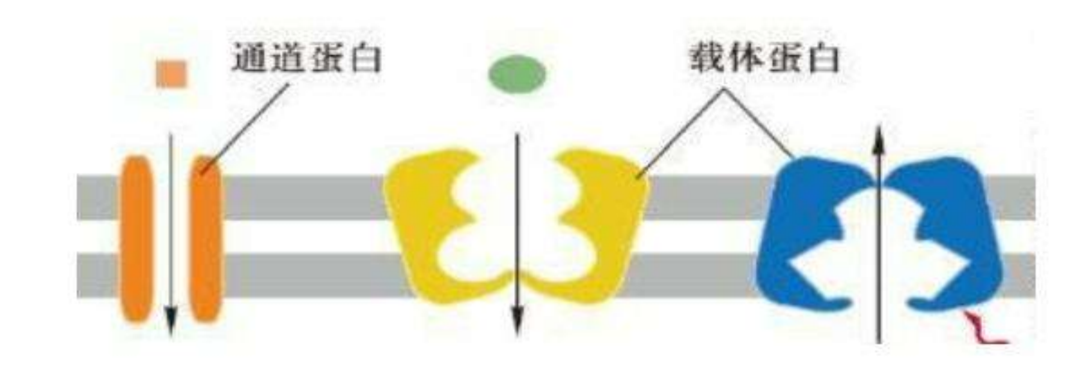
其作用是直接参与核、质的物质交换。

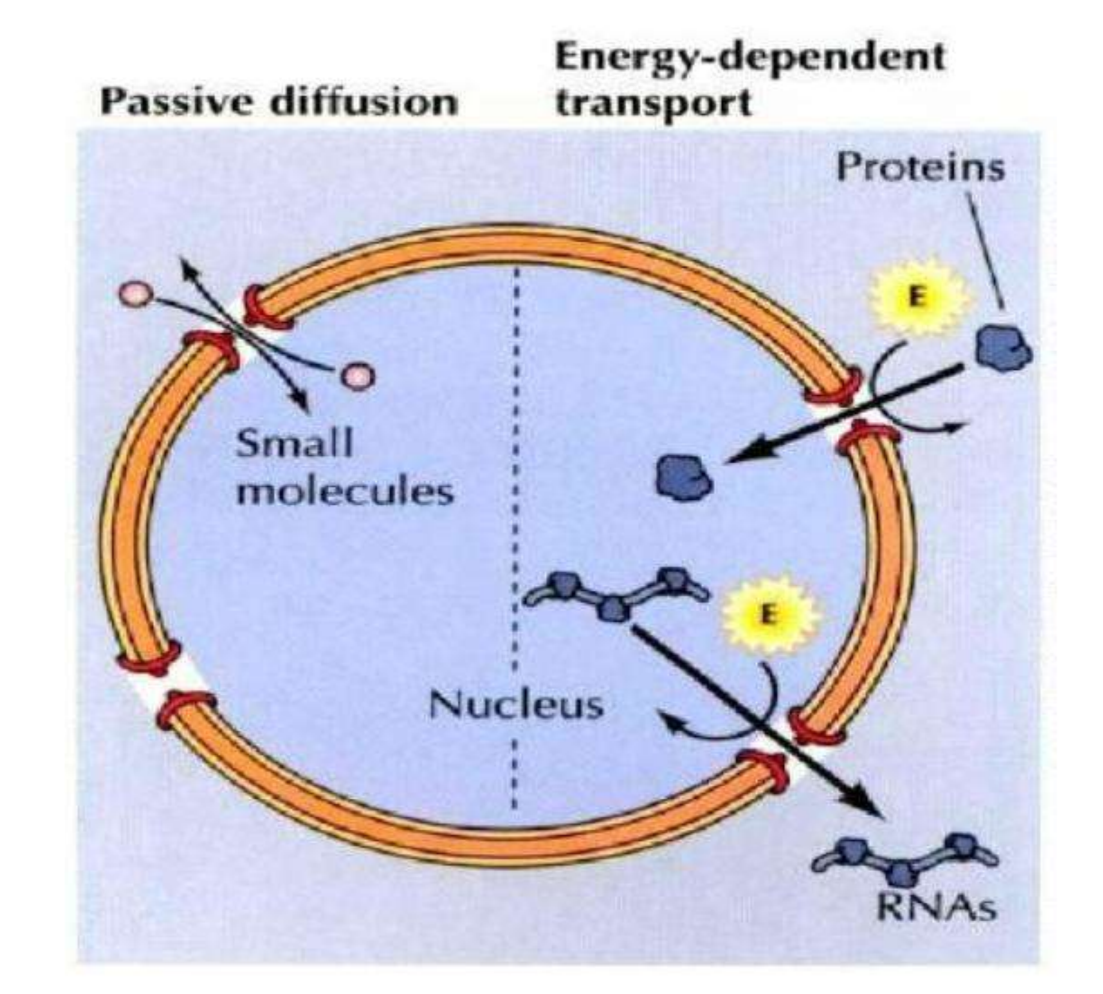


二、核孔复合体（NPC）

（三）功能

- 从功能上讲，NPC可以看作是一种特殊的膜转运蛋白复合体，它是真核细胞中核与质之间进行物质交换的主要通道。
- 与一般的跨膜运输不同，它是**双功能、双向性**的交换通道。
  - 双功能：它有两种运输方式——被动扩散与主动运输。
  - 双向性：既介导蛋白质的核输入，又介导RNA、核糖核蛋白颗粒的核输出。





• 双功能：它有两种运输方式——被动扩散与主动运输。

❖被动扩散

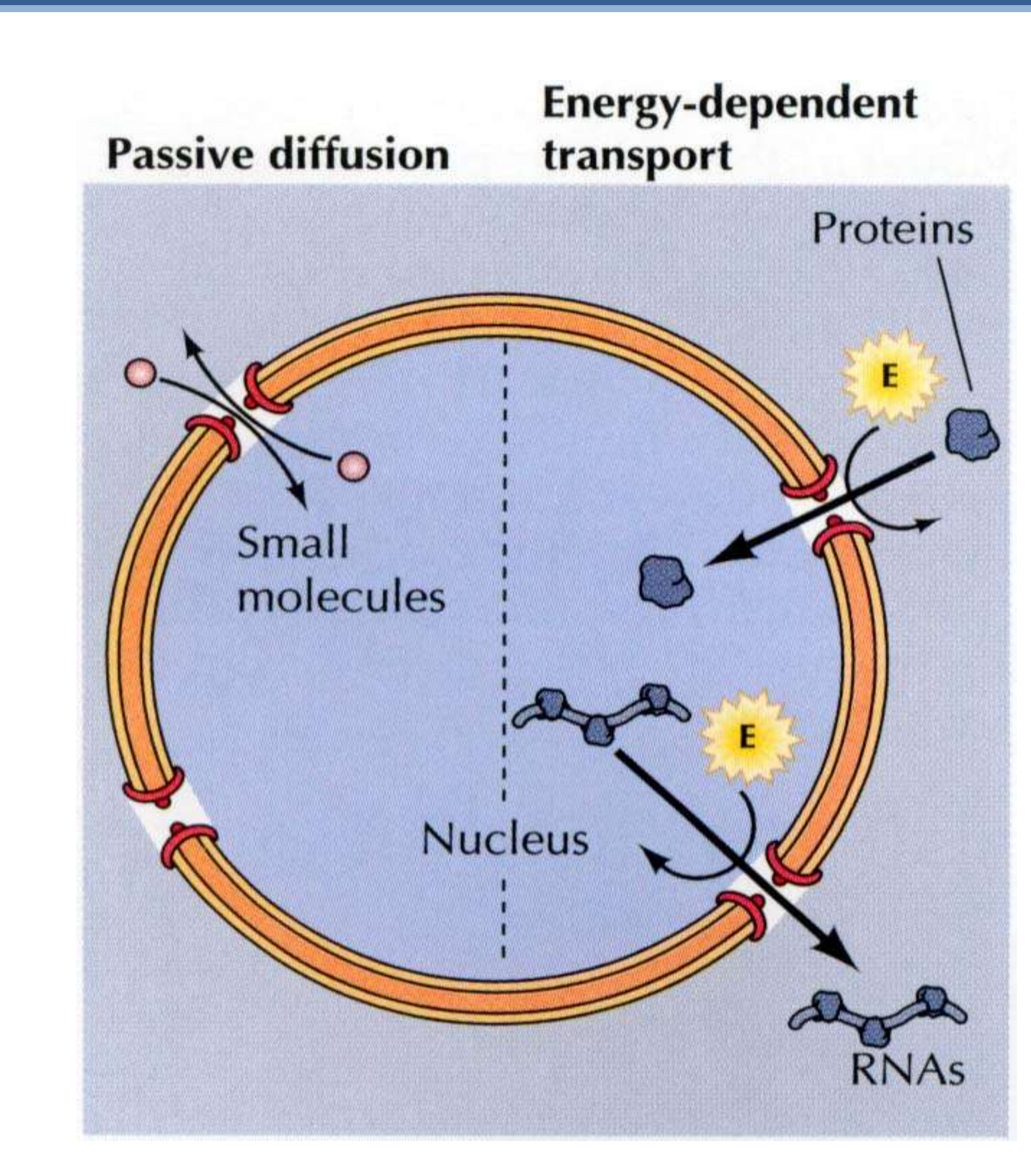
▪ 简单扩散：运输离子、小分子及直径在10nm以下的物质。

▪ 协助扩散

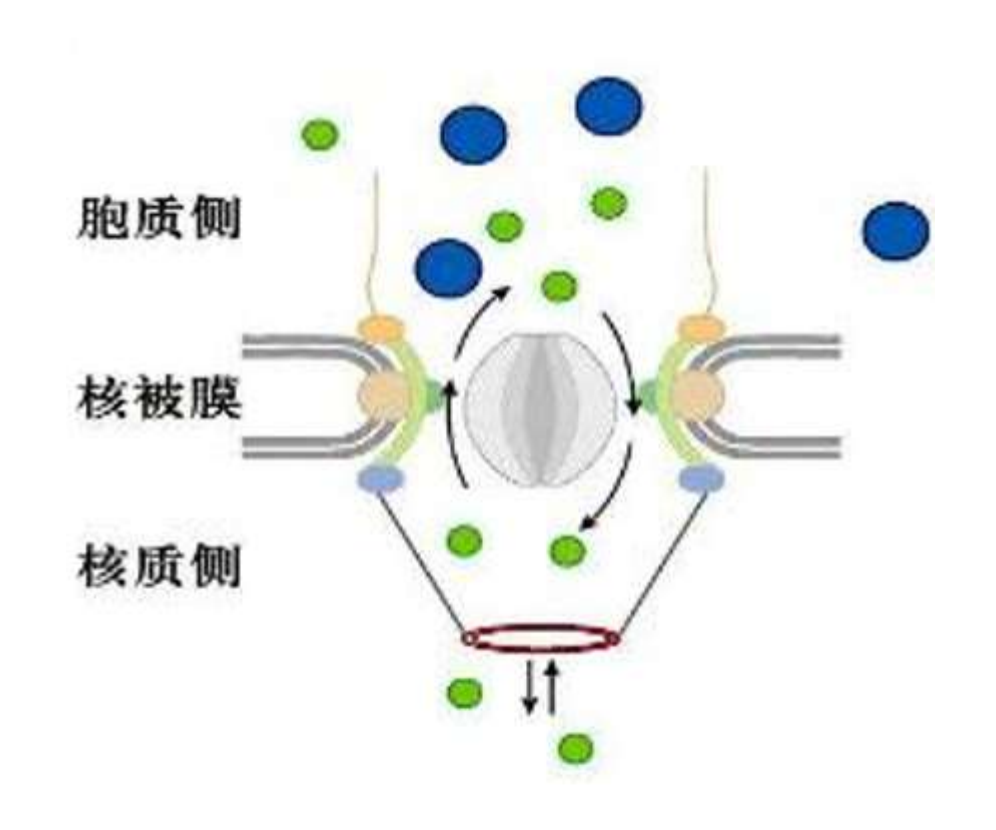
❖主动运输（最重要的功能）

▪ 通过转运受体把大分子运入和运出核孔

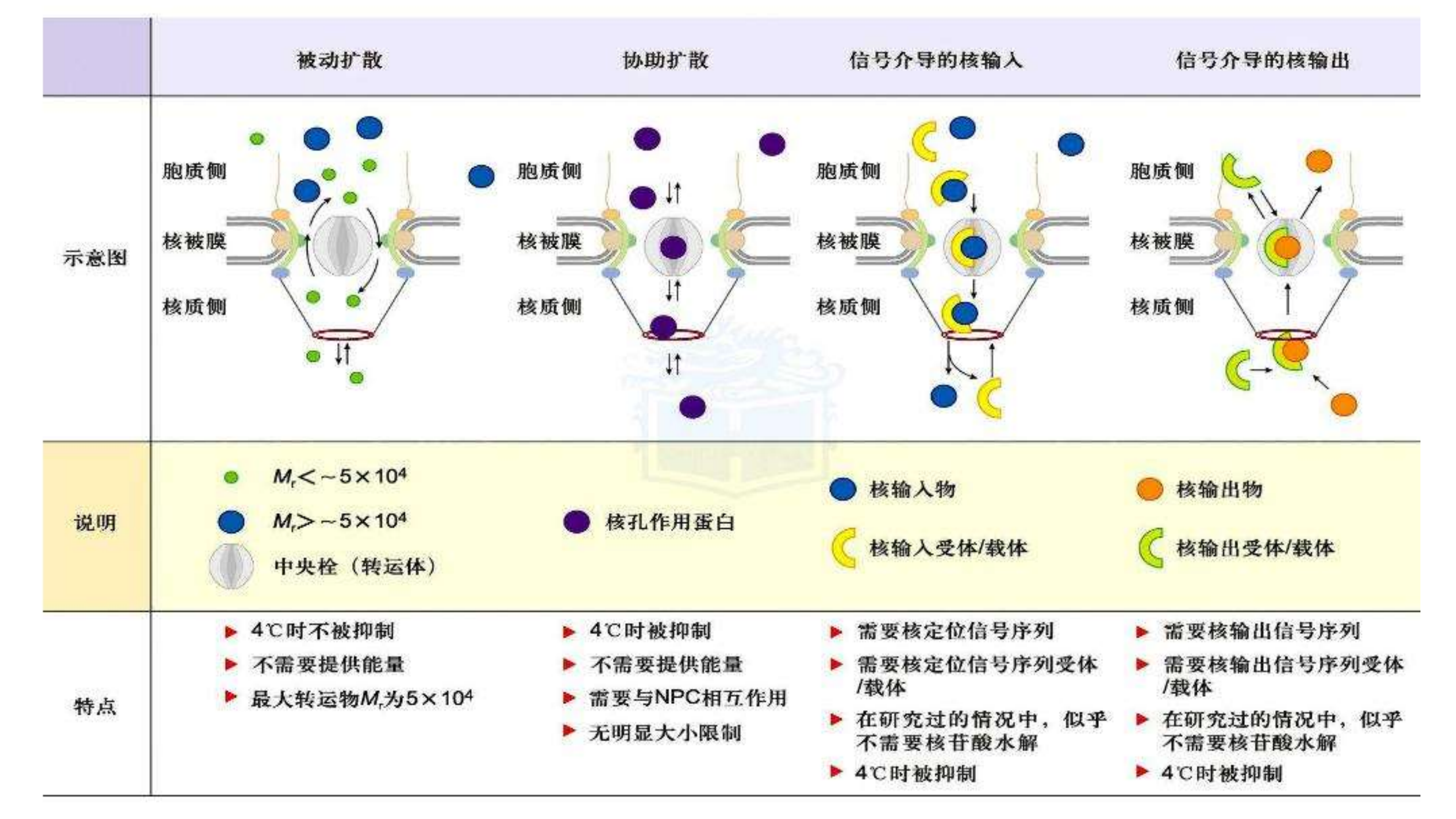
▪ 从胞质运入核的转运受体为importins，从核运入胞质的转运受体为exportins。



关于自由扩散：



- 核孔复合体作为被动扩散的亲水通道，其有效直径为9～10nm，有的可达12.5nm，即离子、小分子以及直径在10 nm 以下的物质原则上可以自由通过。
- 但实际上并不是所有符合这个条件的蛋白质都可以随意出入细胞核。有许多小分子的蛋白质，如组蛋白H1，由于它本身带有具信号功能的氨基酸序列，所以是通过主动运输进入细胞核的；有的小分子蛋白质本身虽然没有信号序列，但可以与其他有信号序列的成分结合，一起被主动运输到核内。
- 因此，核孔复合体的这种被动扩散通道并不意味着所有10 nm以下的小分子在核被膜两侧就一定均匀分布。



被动扩散
协助扩散
信号介导的核输入
信号介导的核输出
示意图
胞质侧
核被膜
核质侧
说明
M_r<~5×10⁴
M_r>~5×10⁴
中央栓（转运体）
核孔作用蛋白
核输入物
核输入受体/载体
核输出物
核输出受体/载体
特点
4℃时不被抑制
不需要提供能量
最大转运物M_r为5×10⁴
4℃时被抑制
不需要提供能量
需要与NPC相互作用
无明显大小限制
需要核定位信号序列
需要核定位信号序列受体/载体
在研究过的情况中，似乎不需要核苷酸水解
4℃时被抑制
需要核输出信号序列
需要核输出信号序列受体/载体
在研究过的情况中，似乎不需要核苷酸水解
4℃时被抑制

（三）功能

- **主动运输的选择性体现在3个方面：**

（1）对运输颗粒的大小的限制：主动运输的功能直径比被动扩散大，约10-20nm，甚至可达26nm。这表明NPC的有效直径的大小是可以调节的。

（2）通过NPC的主动运输是一个信号识别与载体介导的过程，需要ATP提供能量，并表现饱和动力学特征。

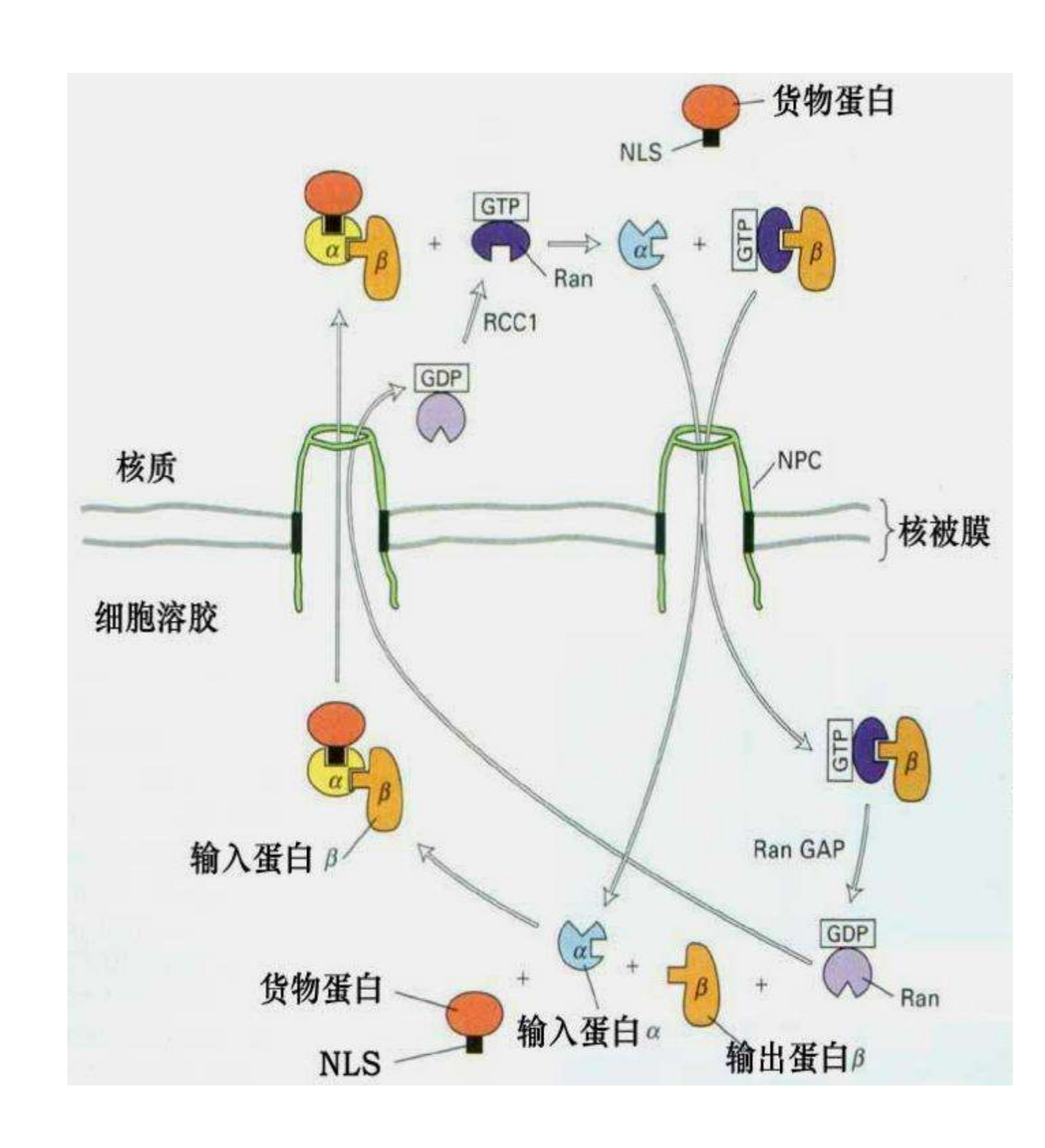
（3）通过NPC的主动运输具有双向性：

- 核输入：把复制、转录、染色体构建和核糖体亚单位组装等所需要的酶、蛋白质等亲核蛋白质从细胞质运输到细胞核；
- 核输出：把翻译所需的RNA、组装好的核糖体亚单位从细胞核运输到细胞质。

（三）功能

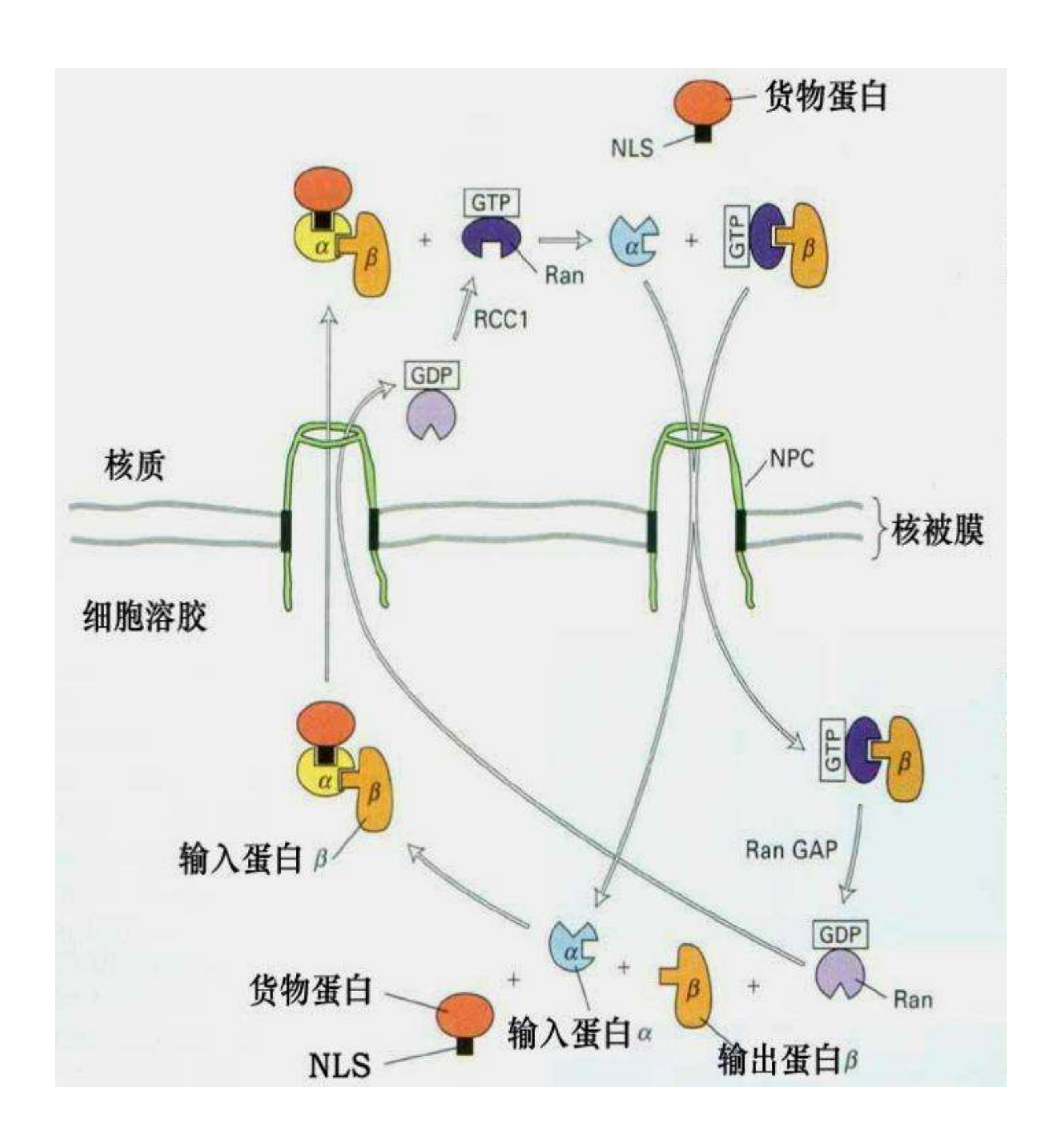
①亲核蛋白质的核输入机制

- 亲核蛋白质：在细胞质内合成，需要或能够进入到细胞核内发挥功能的一类蛋白质。包括：
- 在一个细胞周期中一次性被转运到核内，并一直停留在核内行使功能。如组蛋白。
- 需要穿梭于核质之间进行功能活动，如核输入蛋白（importin）。



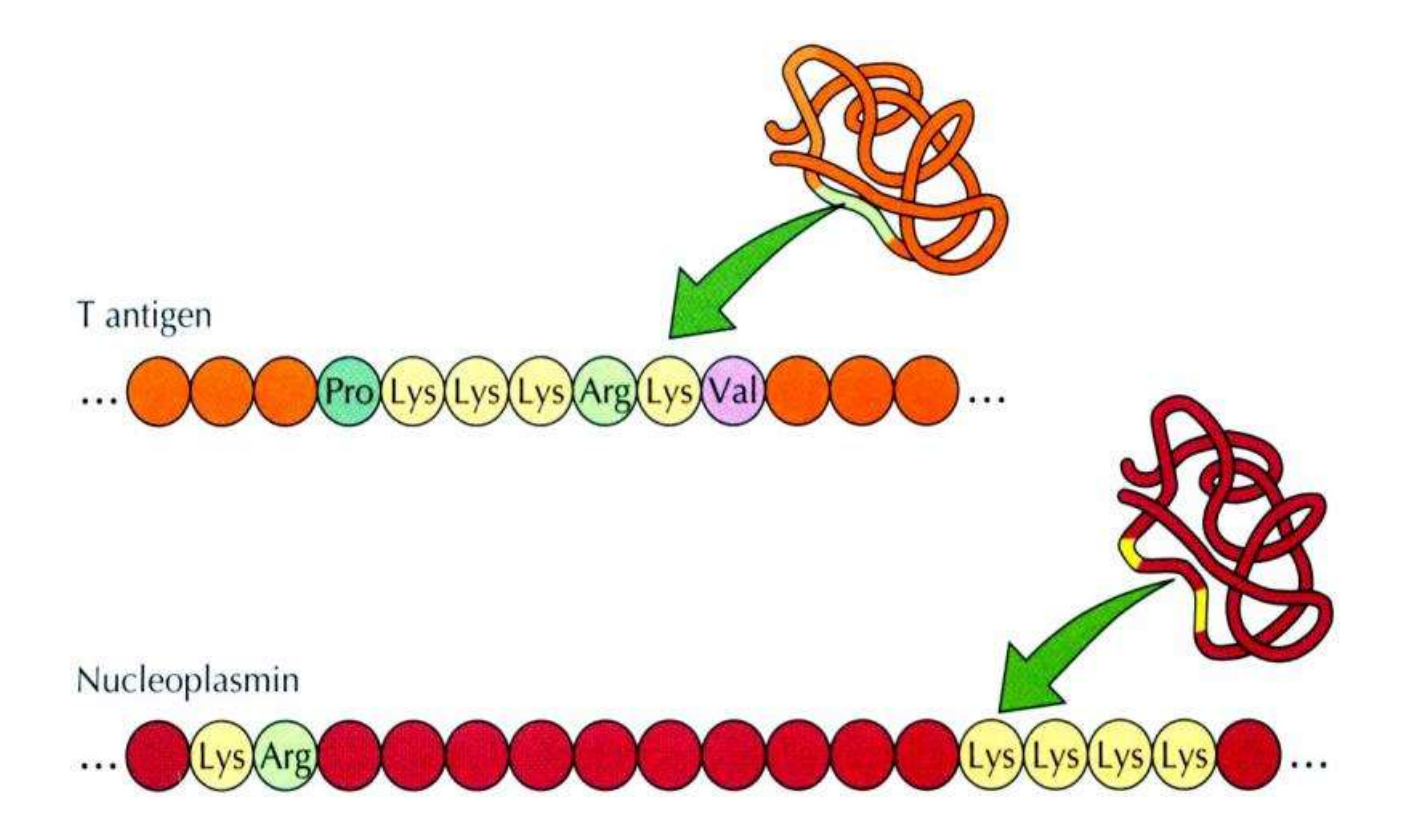
（三）功能

- 亲核蛋白一般都含有特殊的氨基酸序列——保证了整个亲核蛋白能够通过NPC被转运到细胞核，起到定向、定位的作用——**核定位信号**（nuclear location signal，NLS）或**核定位序列**。

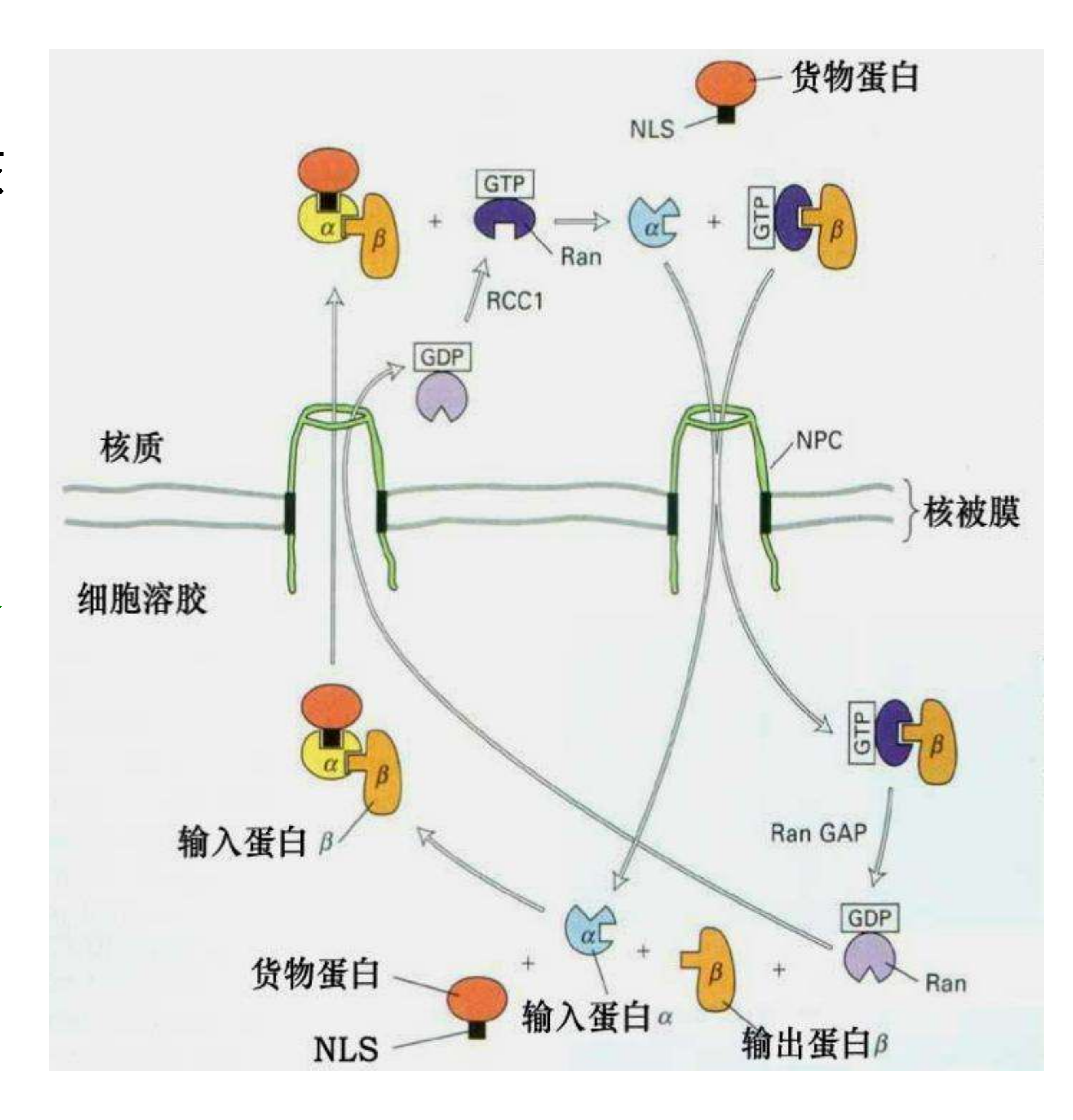


- **核定位信号（NLS）：**

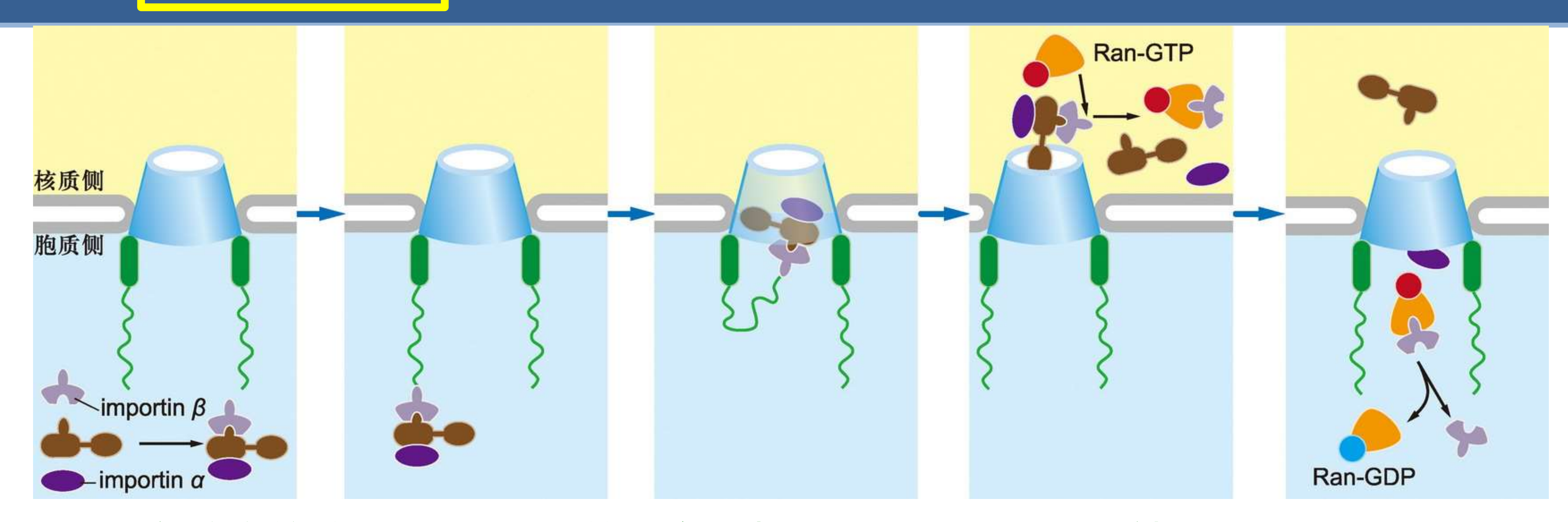
  - 存在于亲核蛋白内的短的氨基酸片段，富含碱性氨基酸，如Lys、Arg，还常含Pro。
  - 这些氨基酸片段可以是一段连续的序列，亦可分成两段存在。
  - 与信号肽不同，NLS可定位在亲核蛋白的不同部位（而非仅N端），并且其本身为亲核蛋白的一个部分，指导亲核蛋白入核后不被切除。



- 亲核蛋白除了本身具有NLS外，其入核转运还需要一些胞质蛋白因子的帮助。目前比较确定的因子有：
- 如 importinα、importinβ：核定位信号受体。
- 如 Ran：一类G蛋白，调节货物复合体的解体或形成。
- 亲核蛋白入核转运的步骤：5个。



亲核蛋白质从细胞质经核孔向细胞核的运输（5步）



1. 带有核定位信号(NSL)片段的蛋白质与受体importin-α/β结合；
2. 复合体与胞质内的纤丝结合；
3. 复合体被送入核内；
4. 与Ran-GTP相互作用，复合体解散；
5. importin-β被Ran-GTP送回胞质，Ran-GTP 水解成Ran-GDP，Ran-GDP返回核内，importin-α回到胞质。

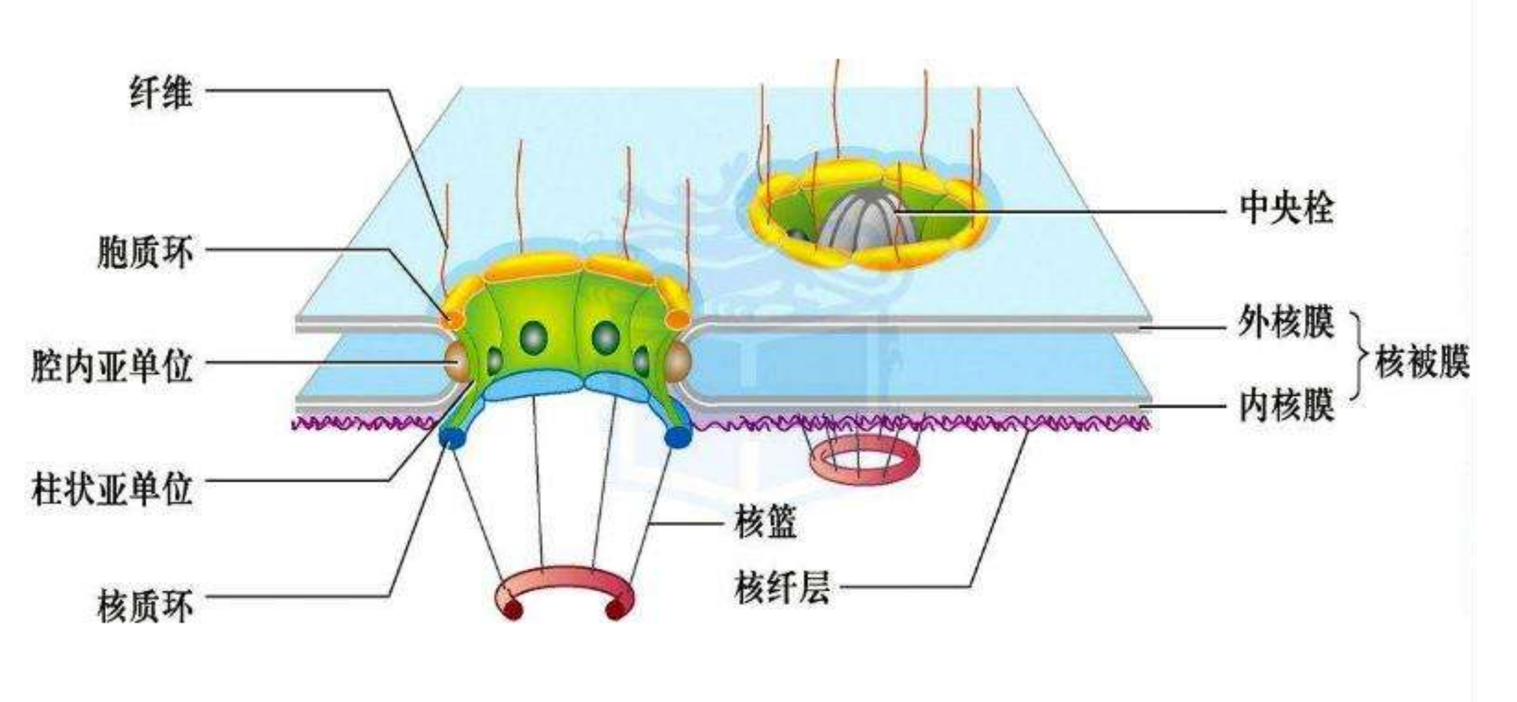
2） RNA及核糖体亚基的出核转运

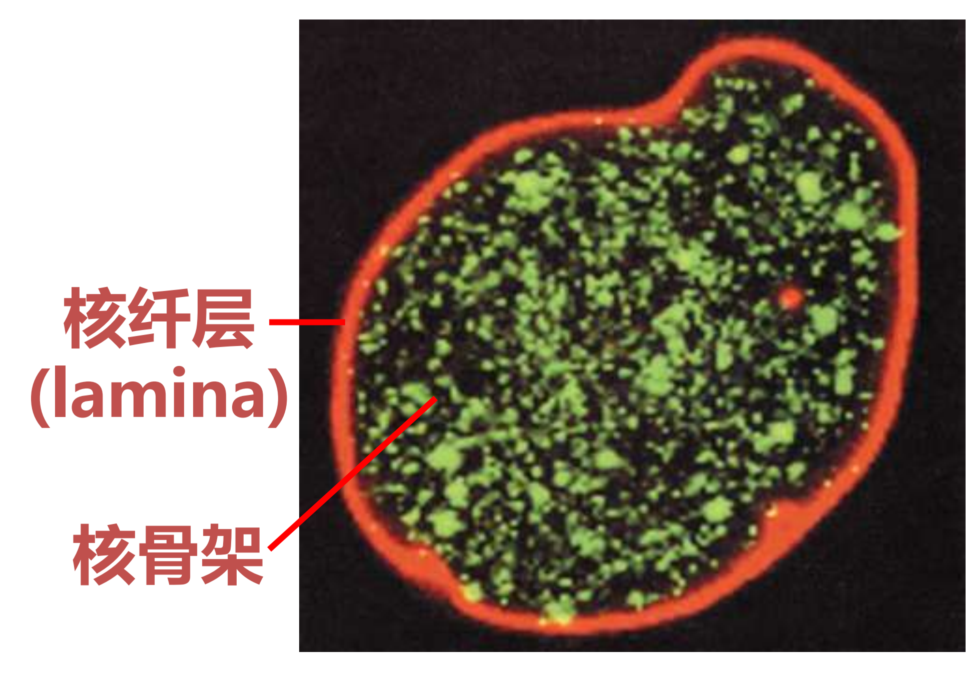
真核细胞中RNA一般要经过转录后加工、修饰成为成熟的RNA分子后才能被转运出核。

核输出信号（nuclear export signal，NES）：引导RNA输出细胞核，对蛋白的出核转运起决定作用的氨基酸序列，受体为exportin。

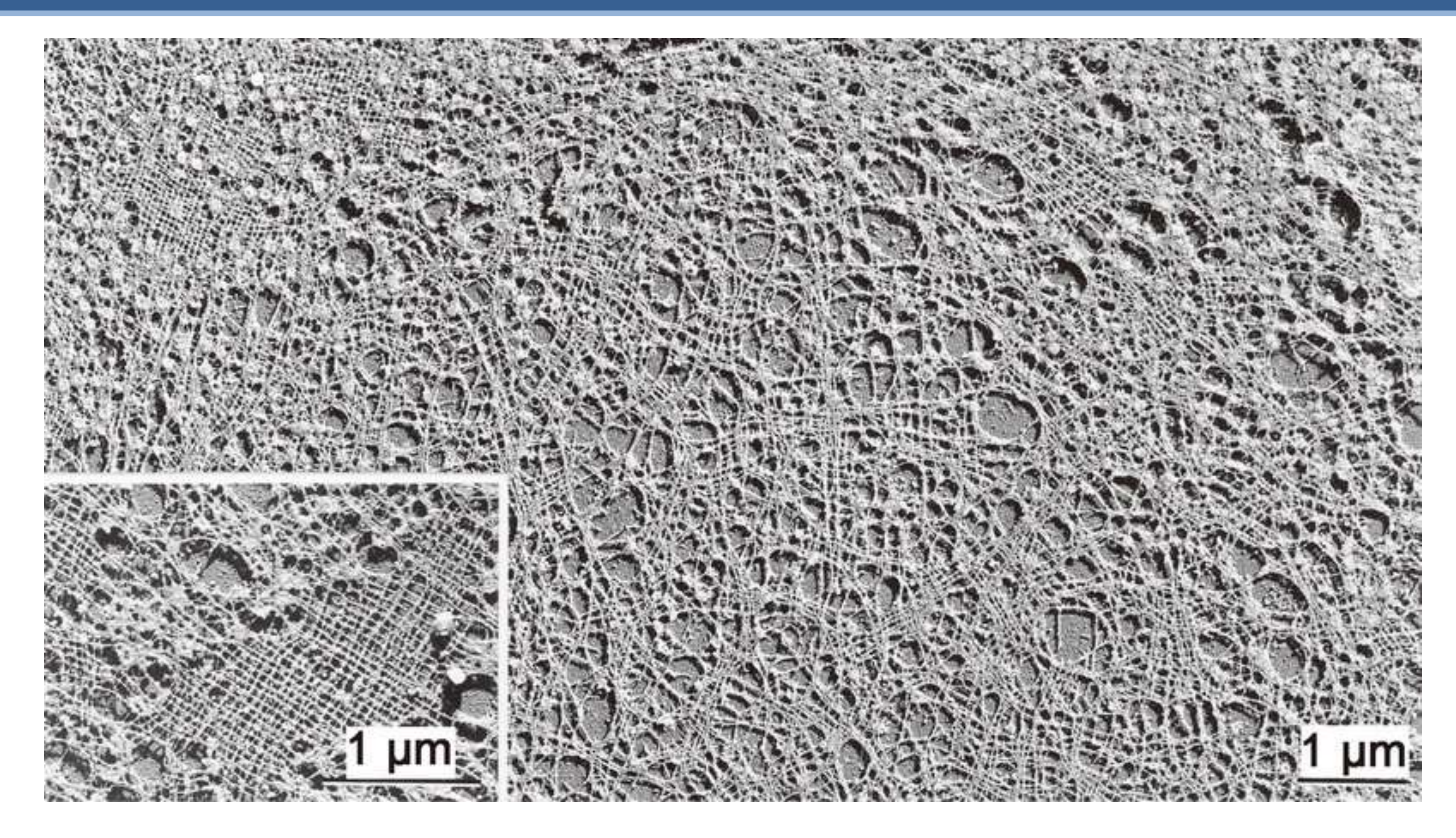
三、核纤层

- 为核膜内表面由核纤层蛋白构成的一层连续致密的纤维状网络结构。
- 纤维直径与中间丝类似，约10nm 。所以，有人也将核纤层蛋白认为是一类特殊的中间丝蛋白。



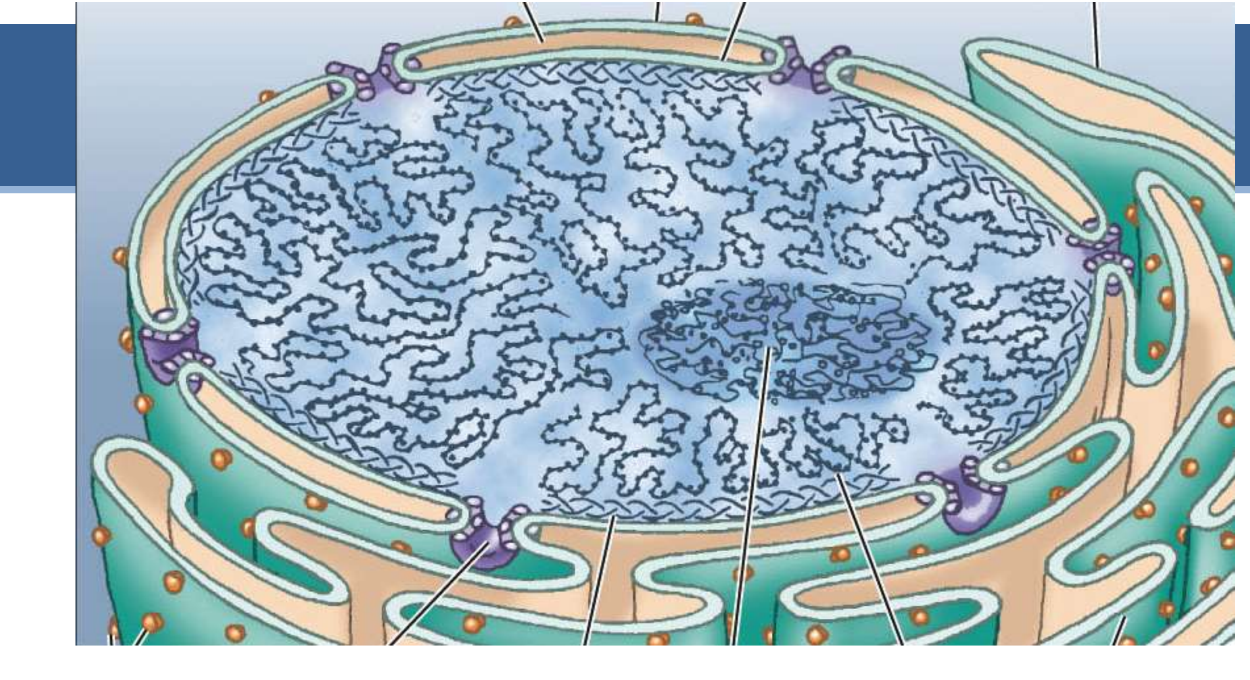


三、核纤层



冷冻蚀刻电镜技术显示核纤层的纤维结构

三、核纤层



➢ 组成：

- 3 种核纤层蛋白：lamin A、B 、C
- 核纤层蛋白本身形成纤维状网络结构。



➢ 动态特点：

在分裂期，核纤层解体，以蛋白单体形式存在于胞质中。

➢ 功能：

对核被膜起支撑作用，为染色体提供支架；
调节基因表达；
调节DNA修复；
与细胞周期有关。

核纤层的功能：

①结构支撑功能。核纤层蛋白形成骨架结构支撑于核被膜的内侧，使得核被膜能起到细胞核与细胞质之间的隔离与信息交换功能。核纤层的骨架功能还得以使细胞核维持正常的形状与大小。

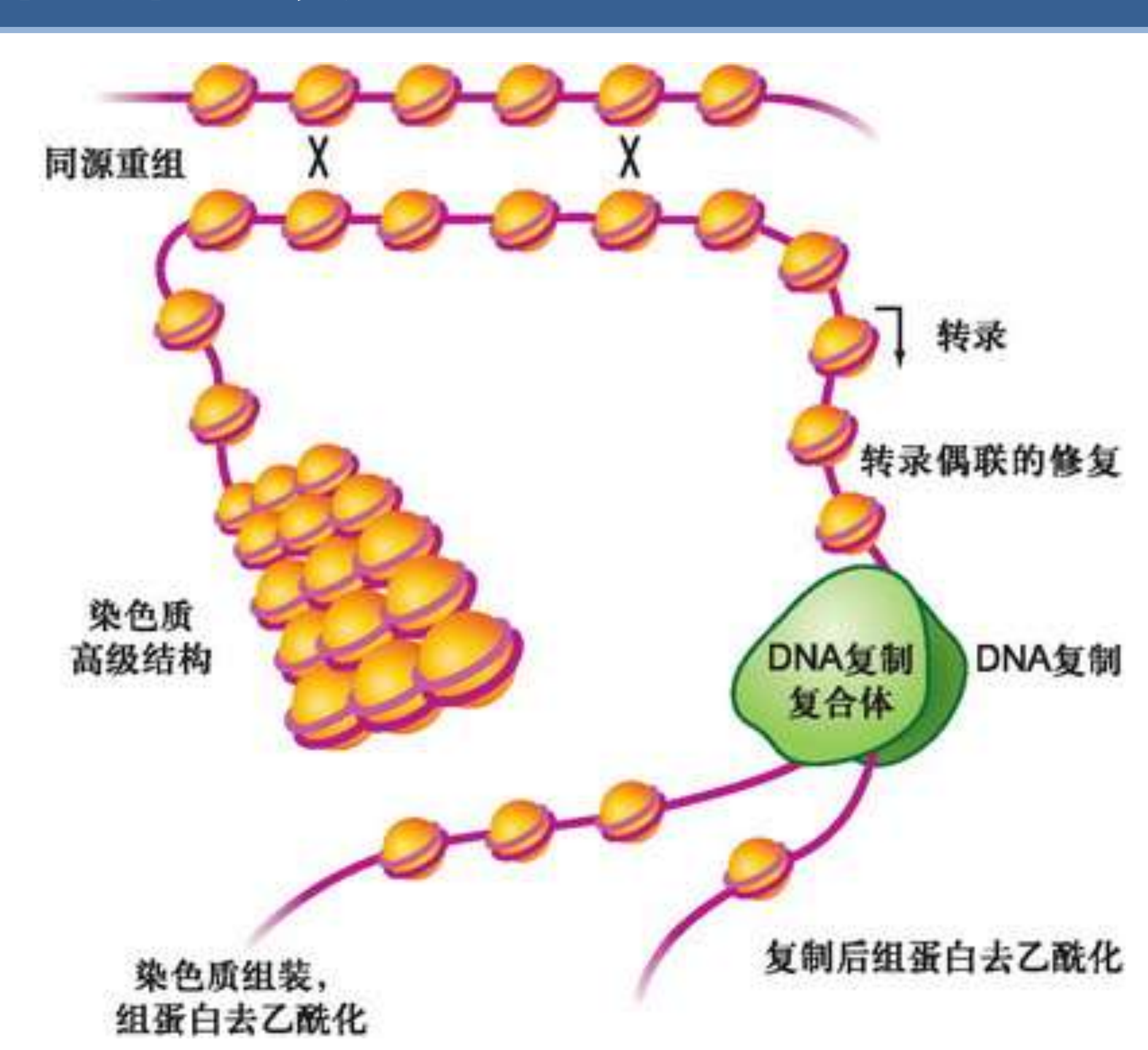
②调节基因表达。果蝇细胞中基因组范围的研究结果表明，沉默基因更倾向于分布于核纤层附近，异染色质更易与核纤层结合，而且核纤层附近染色质的乙酰化水平较低。然而，在酵母细胞中活跃转录的基因也分布于核纤层附近，它们常与核孔复合体结合。所以，核纤层与基因表达的确切关系还不是非常清楚。很可能在不同物种的细胞中，甚至不同组织的细胞中情况不一样。

③调节DNA修复。研究表明，lamin A 核纤层蛋白是双链DNA断裂修复必需的。核纤层蛋白功能异常患者细胞中的基因组变得不稳定，DNA修复反应滞后，端粒变短。

④与细胞周期的关系。细胞分裂过程中，核纤层蛋白解聚成可溶的单体或与崩解后的核被膜相结合。新核形成时，核被膜与染色质结合的同时，核纤层也最后重新形成。

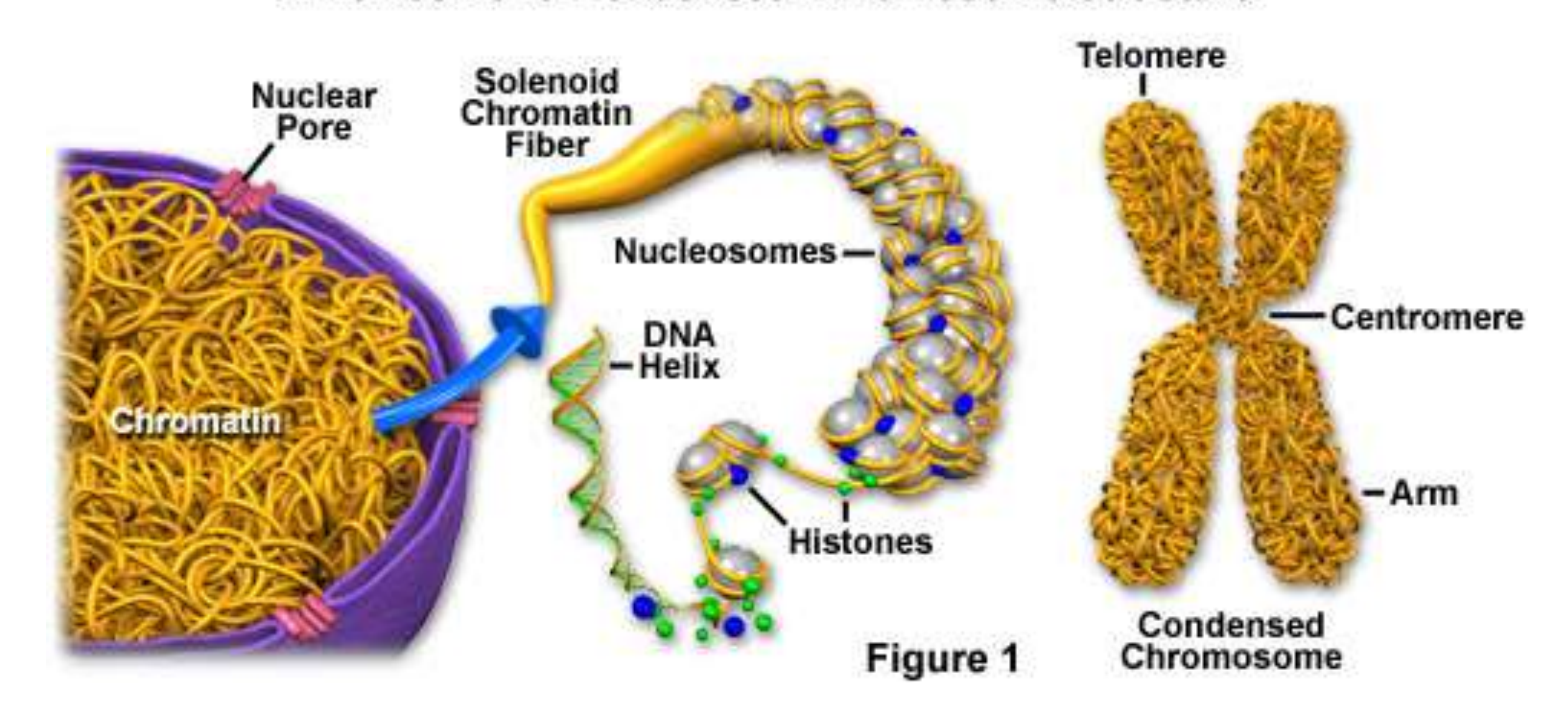
第二节 染色质

- 染色质是间期细胞核内，由**DNA**、**组蛋白**、**非组蛋白**及**少量RNA**组成的线性复合结构



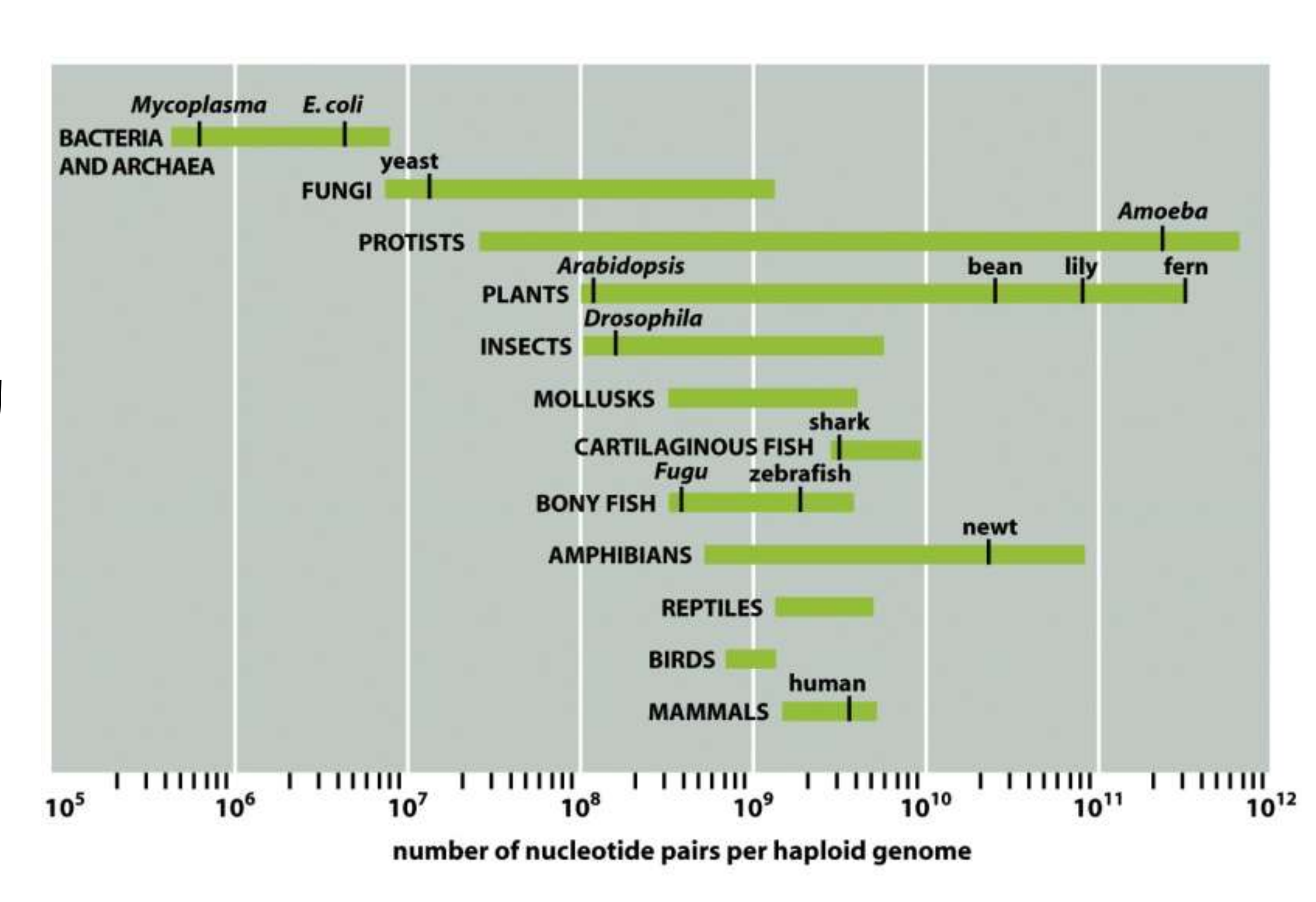
一、染色质DNA

- 染色质和染色体是在细胞周期不同阶段可以互相转变的形态结构



（一）基因组大小比较

狭义而言，某一生物的细胞中储存于单倍染色体组中的总遗传信息，组成该生物的**基因组** (genome) 。



（一）基因组大小比较

物种	基因组大小 /Mb	基因数目	蛋白编码序列
细菌			
生殖支原体	0.58	470	88%
流感嗜血杆菌	1.8	1 743	89%
大肠杆菌	4.6	4 288	88%
酵母			
芽殖酵母	12	6 000	70%
裂殖酵母	12	4 800	60%
无脊椎动物			
秀丽隐杆线虫	97	19 000	25%
果蝇	180	13 600	13%
植物			
拟南芥	125	26 000	25%
水稻	440	30 000~50 000	~10%
哺乳动物			
人	3 200	30 000~40 000	1%~1.5%

Mb = 百万碱基对。

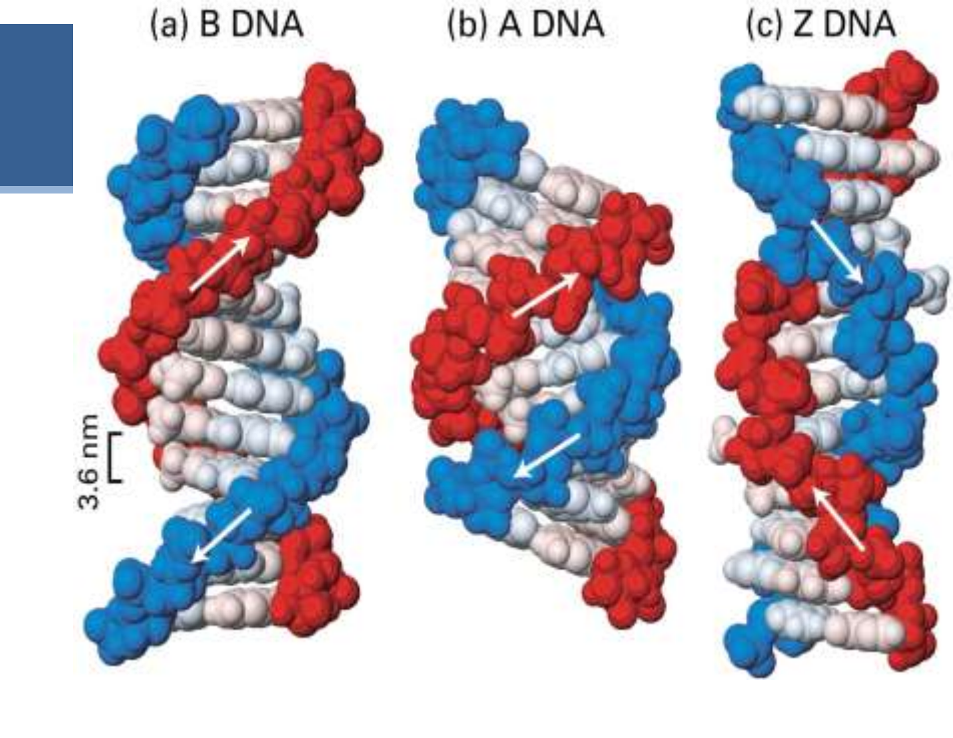
（二）基因组DNA类型

表 11-3　人类基因组 DNA 类型及在基因组中含量

种类	长度	人类基因组中的拷贝数	人类基因组中的含量 /%
蛋白编码序列			
单一基因	可变	1	约 15* (0.8 ↑)
双重基因或基因家族里分出的基因	可变	2 至约 1 000	约 15* (0.8 ↑)
编码 rRNA、tRNA、snRNA 和组蛋白的串联重复基因	可变	20~300	0.3
重复序列 DNA			
简单序列 DNA	1~500 bp	可变	3
散在重复序列			
DNA 转座子	2~3 kb	300 000	3
LTR 反转座子	6~11 kb	440 000	8
非 LTR 反转座子			
LINE	6~8 kb	860 000	21
SINE	100~300 bp	1 600 000	13
编译假基因	可变	1 至约 100	约 0.4
未分类的间隔 DNA	可变	n.a.	约 25

*表示包括内含子的完整转录单位；↑表示编码蛋白的外显子。人类基因组编码蛋白的基因有 30 000~35 000 个，但这一数目可能被低估。n.a. 表示：不适用于此。来源于：E. S. Lander *et al.*, *Nature*, 2001，409:860。

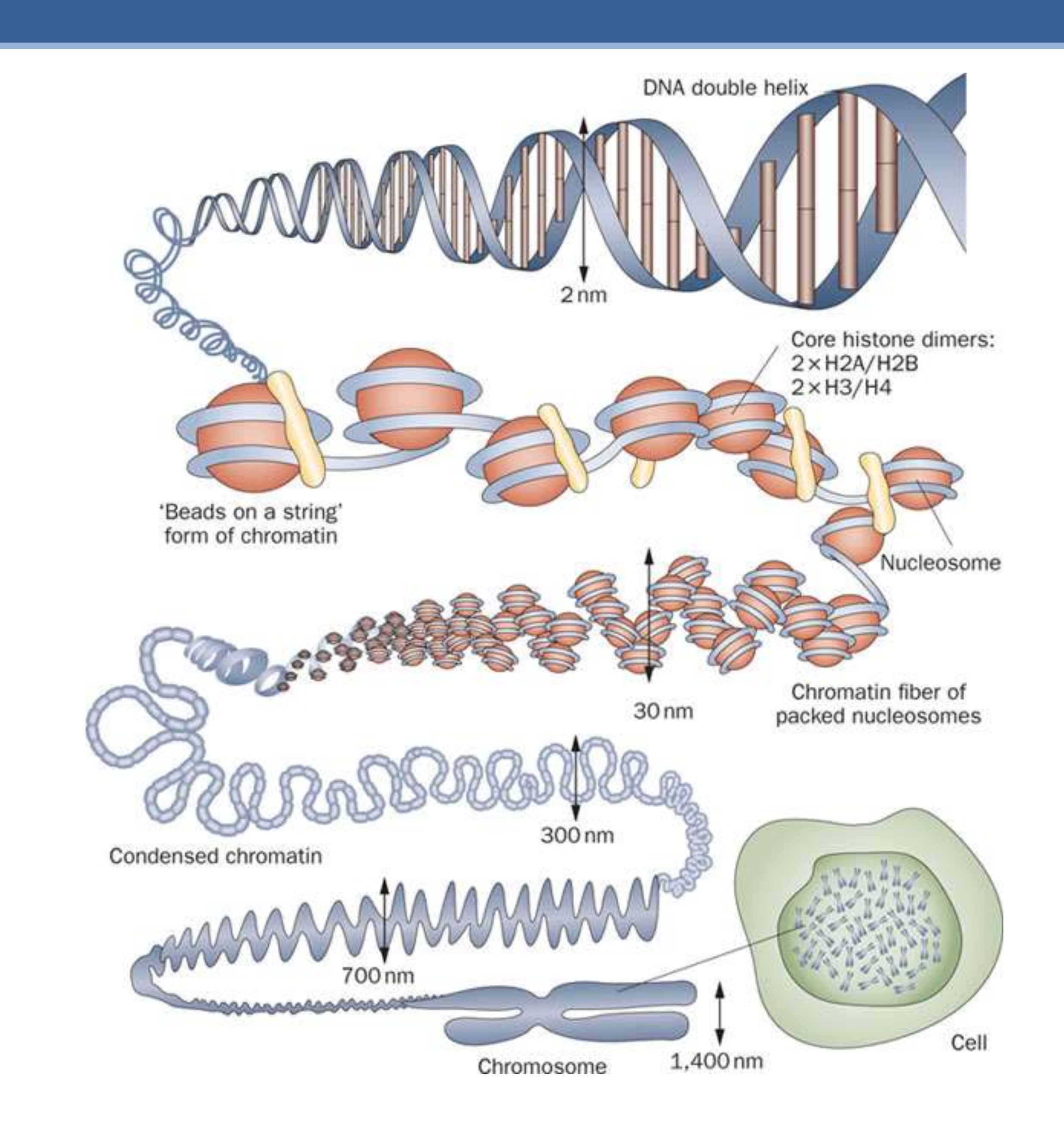
DNA二级结构的 3 种构型



- B型DNA (右手双螺旋 DNA) 是经典的“沃森-克里克”结构，二级结构相对稳定，水溶液和细胞内天然DNA大多为B型DNA；
- A型DNA是B型DNA的重要变构形式，右手双螺旋，其分子形状与RNA的双链区和DNA/RNA 杂交分子很相近；与B型的差别在于DNA的大小沟有所不同，A型的更紧密。
- Z型DNA，呈左手螺旋，也是B型DNA的变构形式，发生在高盐浓度下的CGCGCG短链中，生物功能不详。体现DNA双螺旋结构的可塑性。

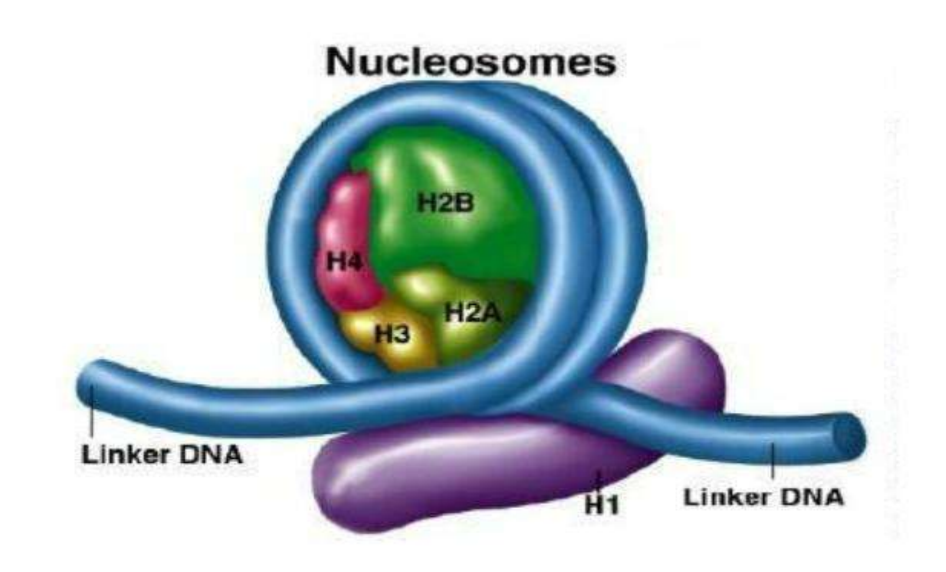
二、染色质蛋白

- **组蛋白（histone）**
  - 与DNA结合没有序列特异性
- **非组蛋白（nonhistone）**
  - 与特定DNA序列或组蛋白相结合

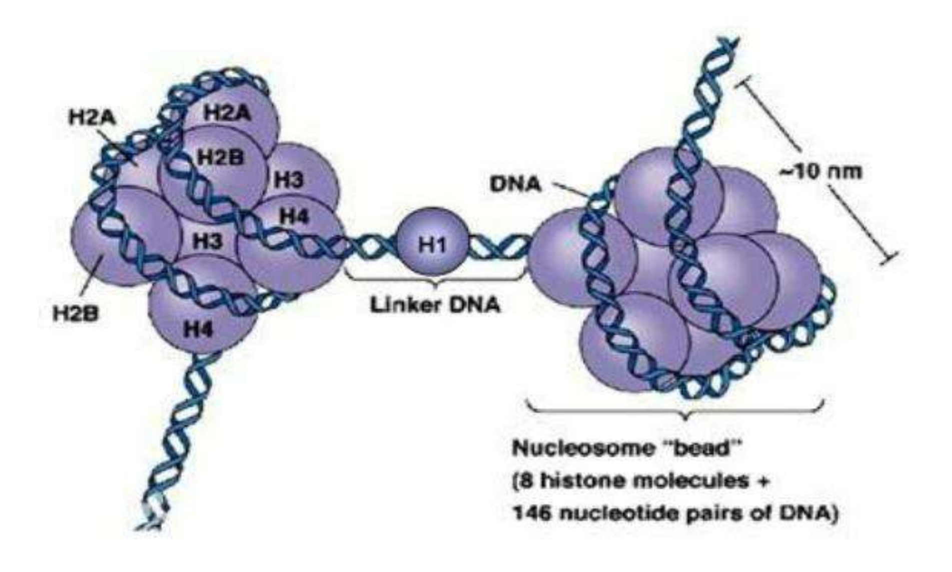


（一）组蛋白

- 属**碱性蛋白质**，富含带正电荷的Arg（精氨酸）和Lys（赖氨酸）等碱性氨基酸，可以和酸性DNA 紧密结合，一般不要求特殊核苷酸序列。



- 分为两类：
- **核小体组蛋白**
- **H1 组蛋白**

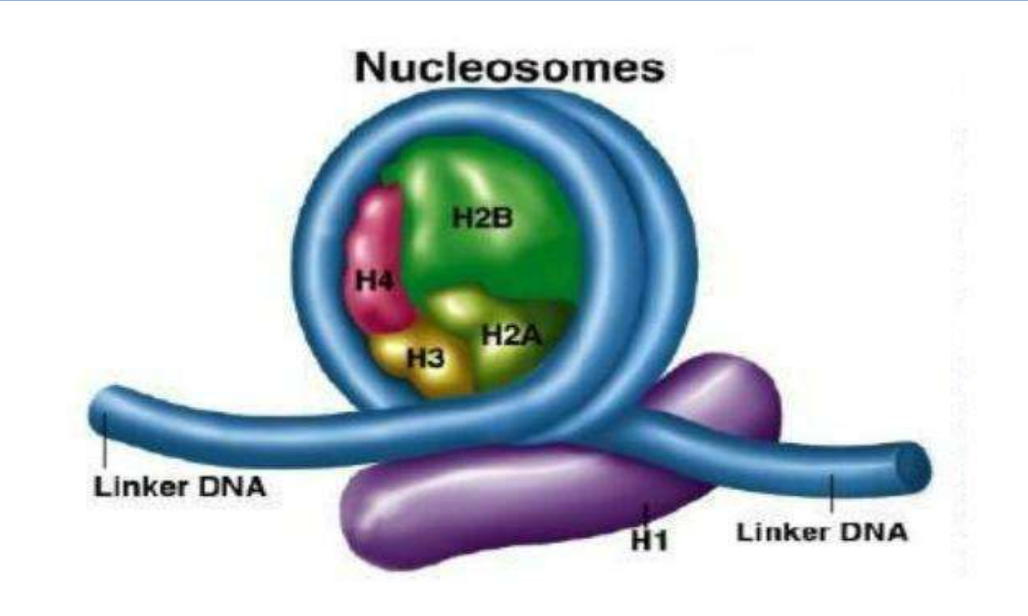


（一）组蛋白

➢ **核小体组蛋白**

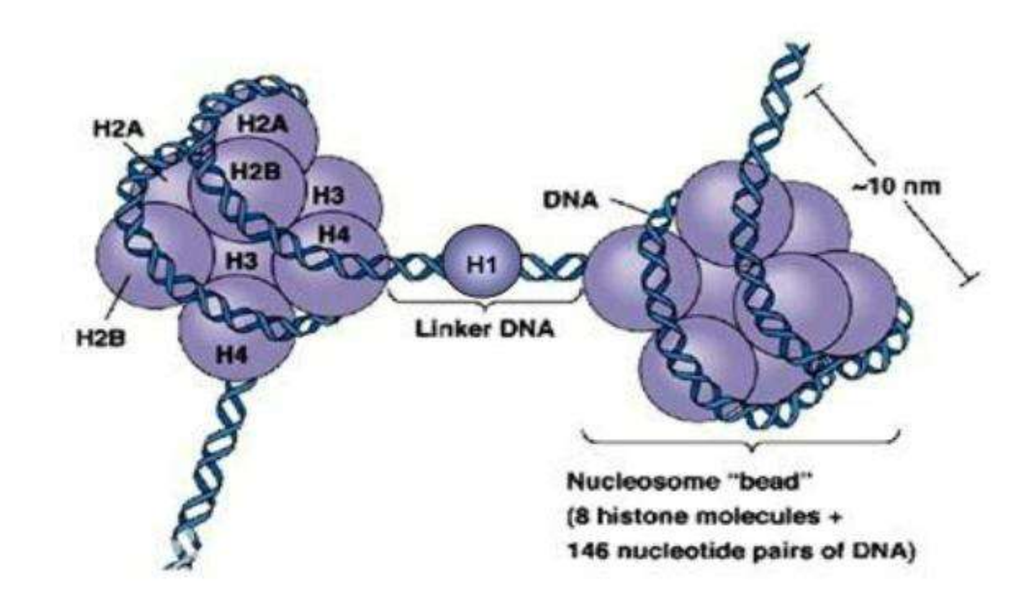
H2A、H2B、H3 和H4

没有种属及组织特异性，进化上十分保守，有相互作用形成复合体的趋势，从而帮助DNA卷曲形成核小体的稳定结构。



➢ **H1 组蛋白**

在构成核小体中起连接作用，并赋予染色质以极性。H1有一定的种属和组织特异性，在进化上不如核小体组蛋白那样保守。

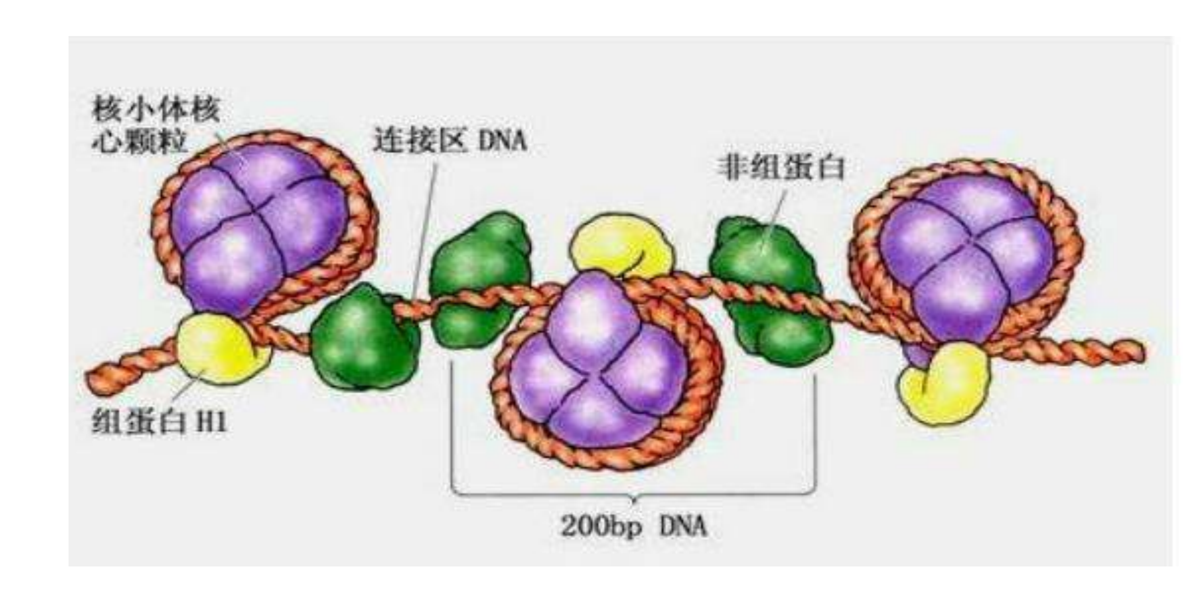


（二）非组蛋白

- 与组蛋白不同，非组蛋白是指与特异DNA序列相结合的蛋白质，故又称序列特异性DNA结合蛋白。

- 非组蛋白的特性：

  ①具有多样性：
  不同组织细胞中非组蛋白的种类和数量都不相同，包括参与核酸代谢与修饰的多种成分，如DNA聚合酶、RNA聚合酶、基因调控蛋白、染色质支架蛋白等。

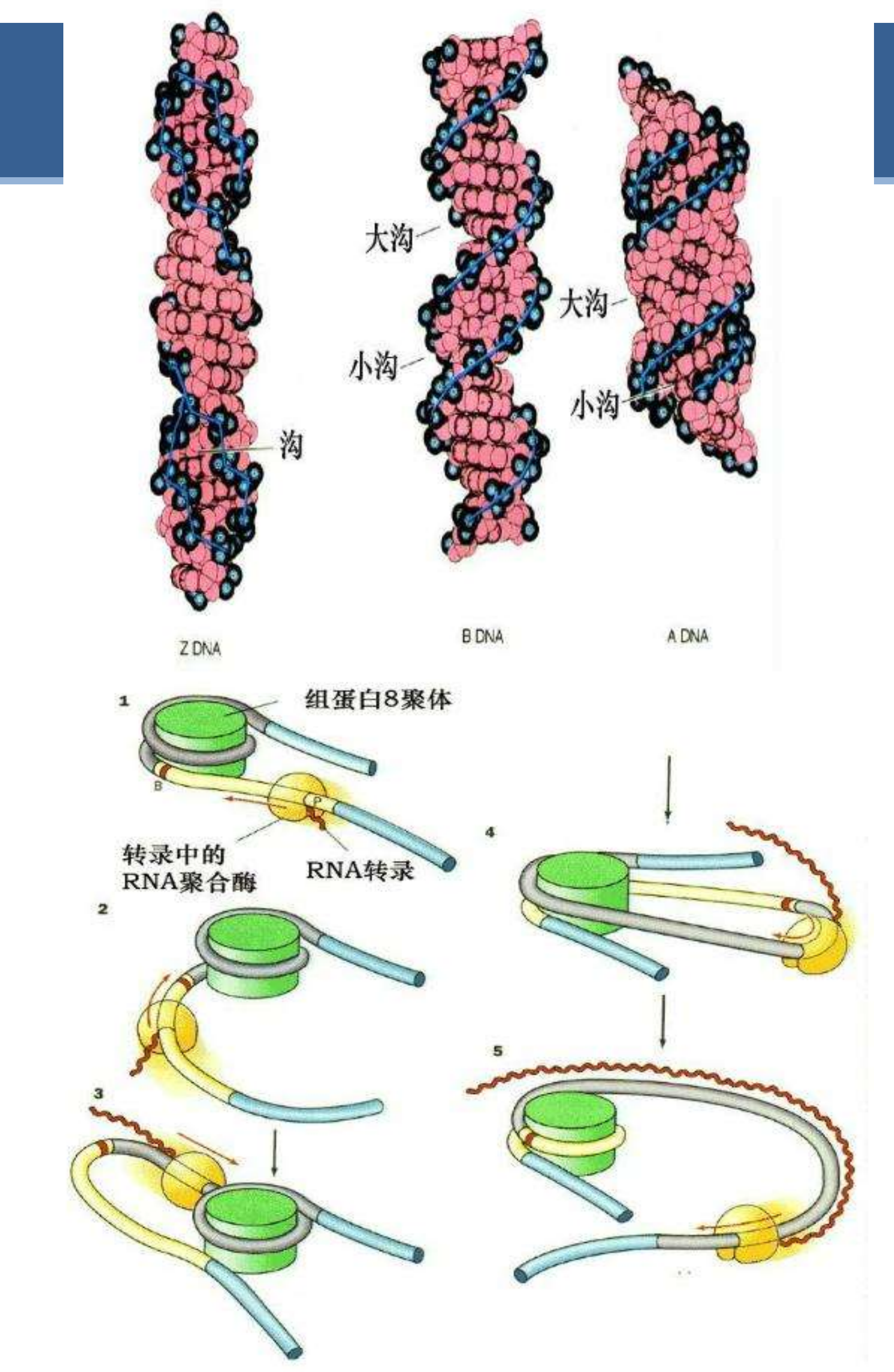


（二）非组蛋白

- 非组蛋白的特性：

  ②识别DNA具有特异性：
  能识别特异的DNA序列，识别信息来源于DNA核苷酸序列本身，识别位点位于DNA双螺旋的大沟部分，识别与结合靠氢键和离子键；

  ③具有功能多样性：
  如协助启动DNA复制，控制基因转录，调节基因表达，帮助DNA分子折叠成染色质高级结构等。



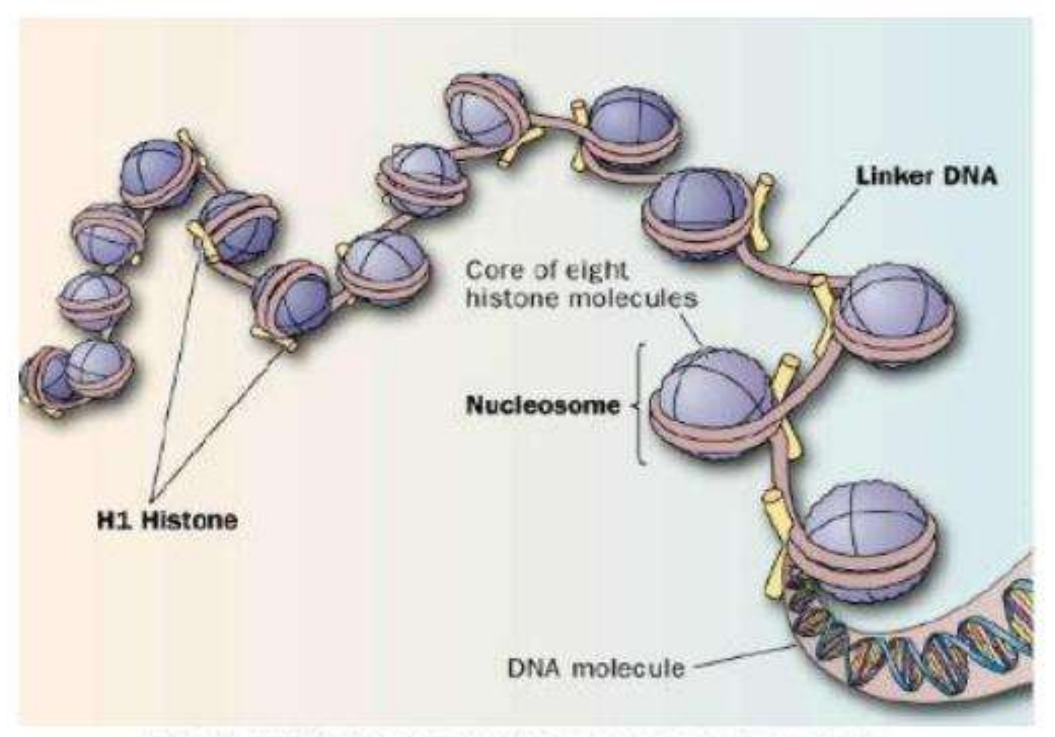
三、核小体

- 核小体是染色质组装的基本结构单位。

（一）核小体的发现

- 实验：电镜观察，核酸酶酶切降解，X射线衍射、中子散射和电镜三维重构技术，微小染色体分析。

- 核小体的直径约10nm。



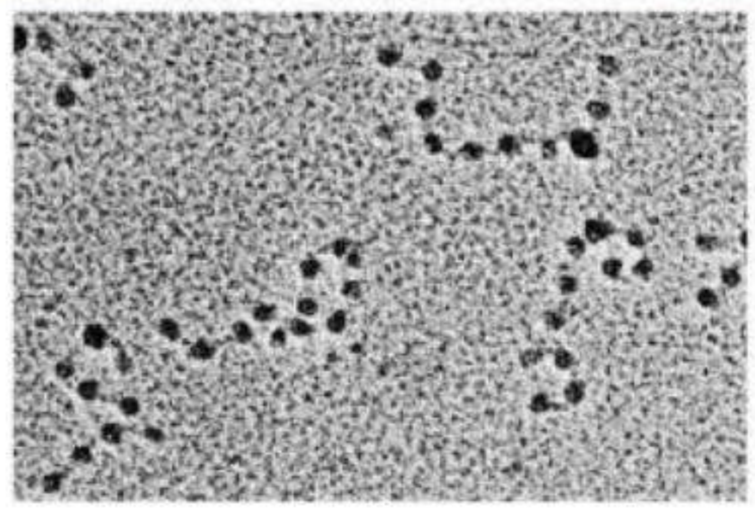


图9-8 透射电镜显示串珠状11 nm 的核小体结构

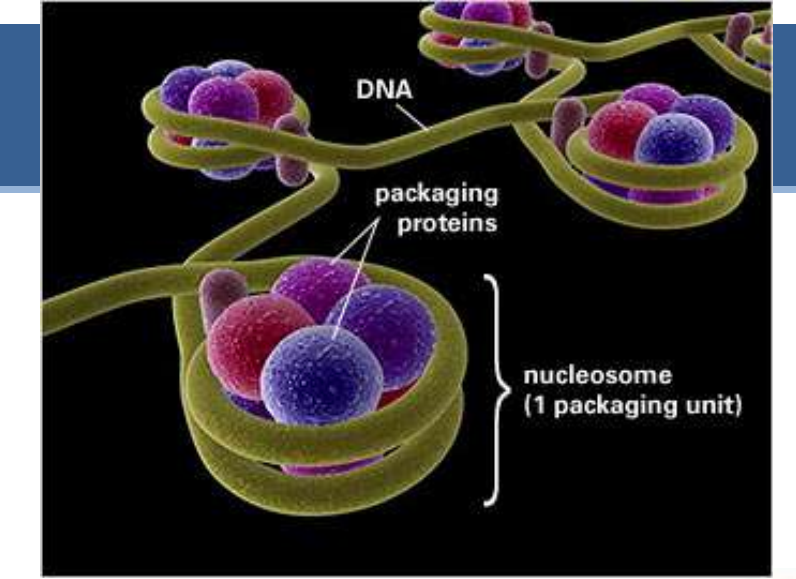
- X 射线晶体衍射揭示核小体三维结构

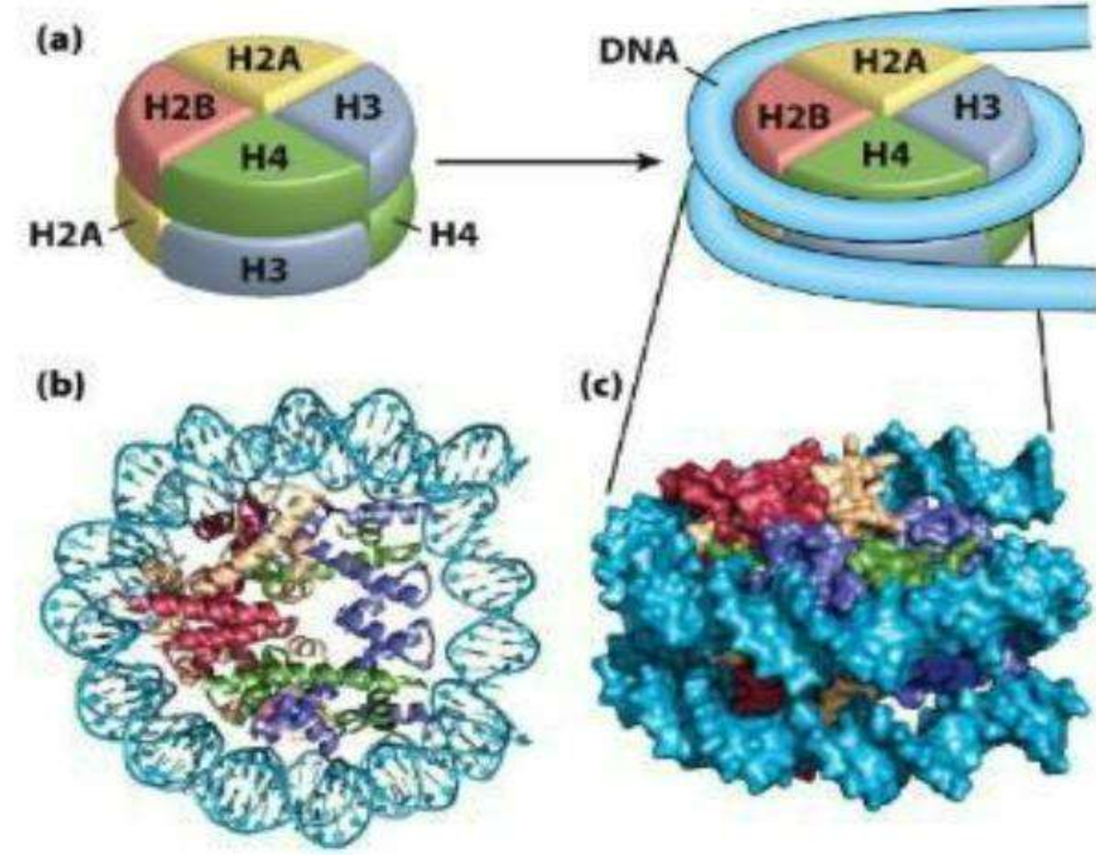
三、核小体

（二）核小体的结构

①每个核小体由一段长约200bp左右的DNA超螺旋、一个组蛋白八聚体以及一个组蛋白H1分子组成。

②组蛋白八聚体构成核小体的盘状核心颗粒，由4个异二聚体（2个H2A·H2B，2个H3·H4）组成。





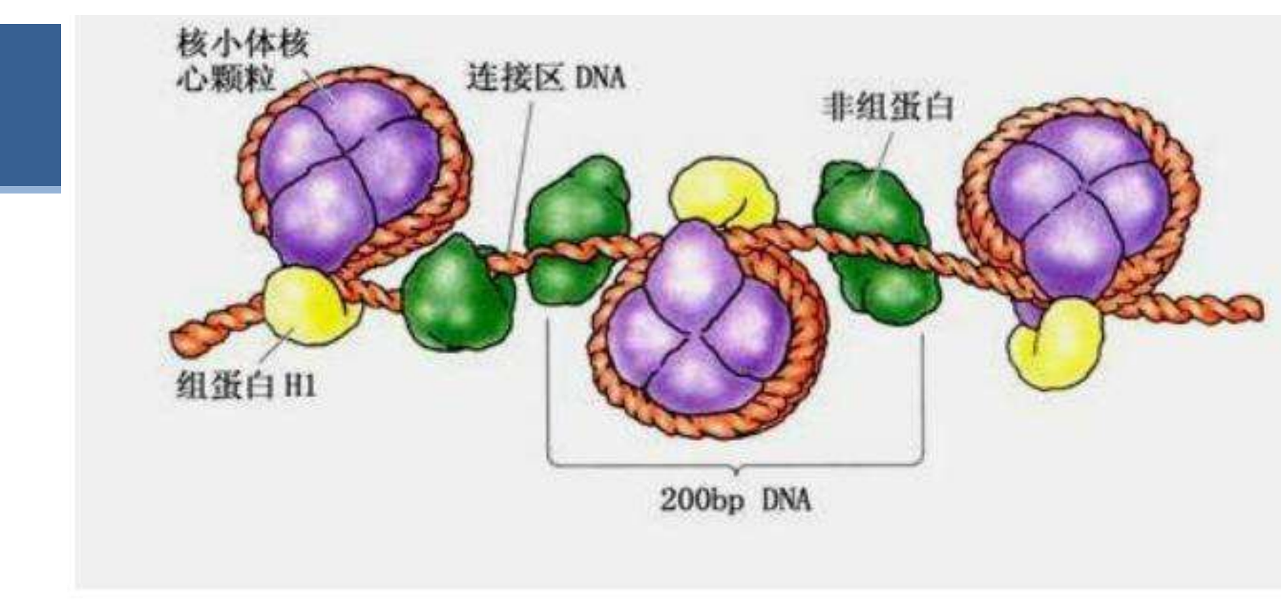
三、核小体

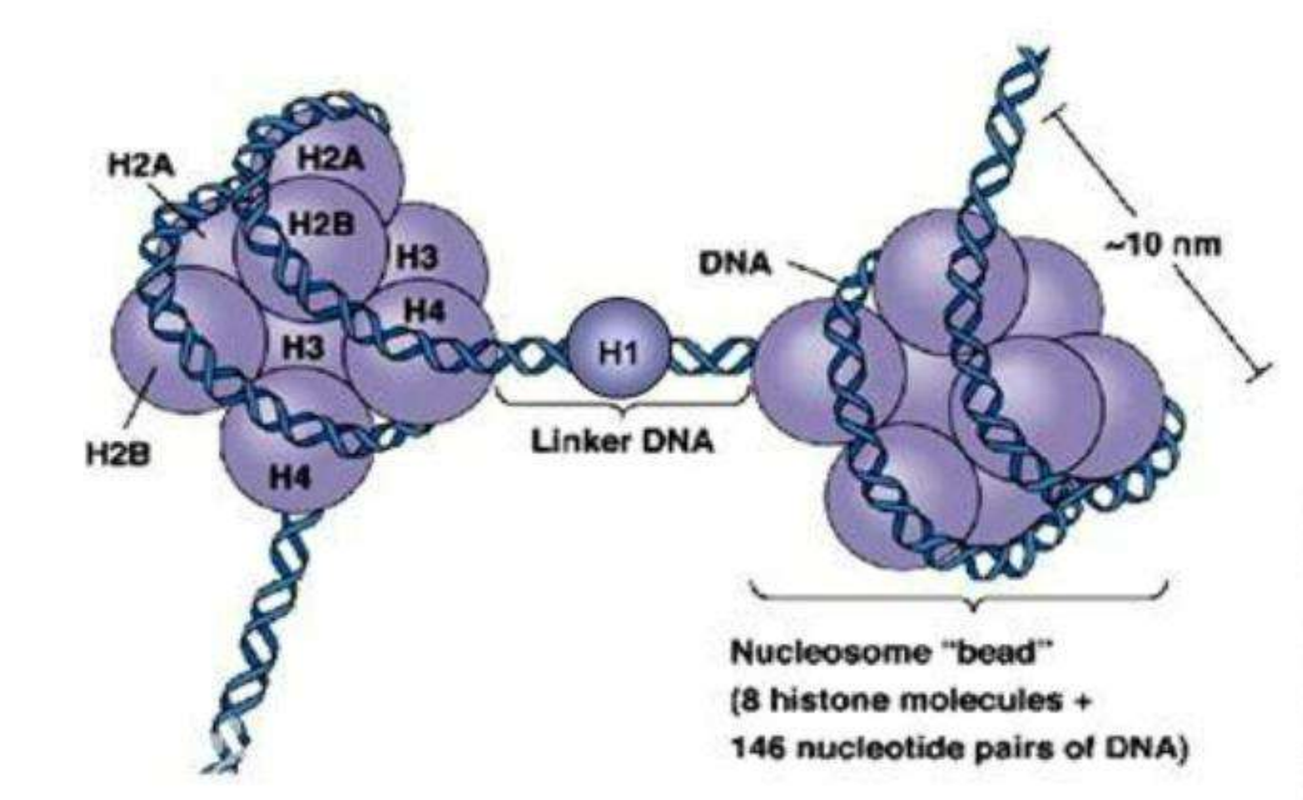
（二）核小体的结构

③长约146bp的DNA片段在组蛋白八聚体上缠绕约1.75圈。

- 组蛋白H1在核心颗粒外结合另外20bp DNA分子，锁住核小体DNA的进出端，起稳定核小体的作用。

④两个相邻核小体之间由连接DNA相连。连接DNA长度约0-80bp。



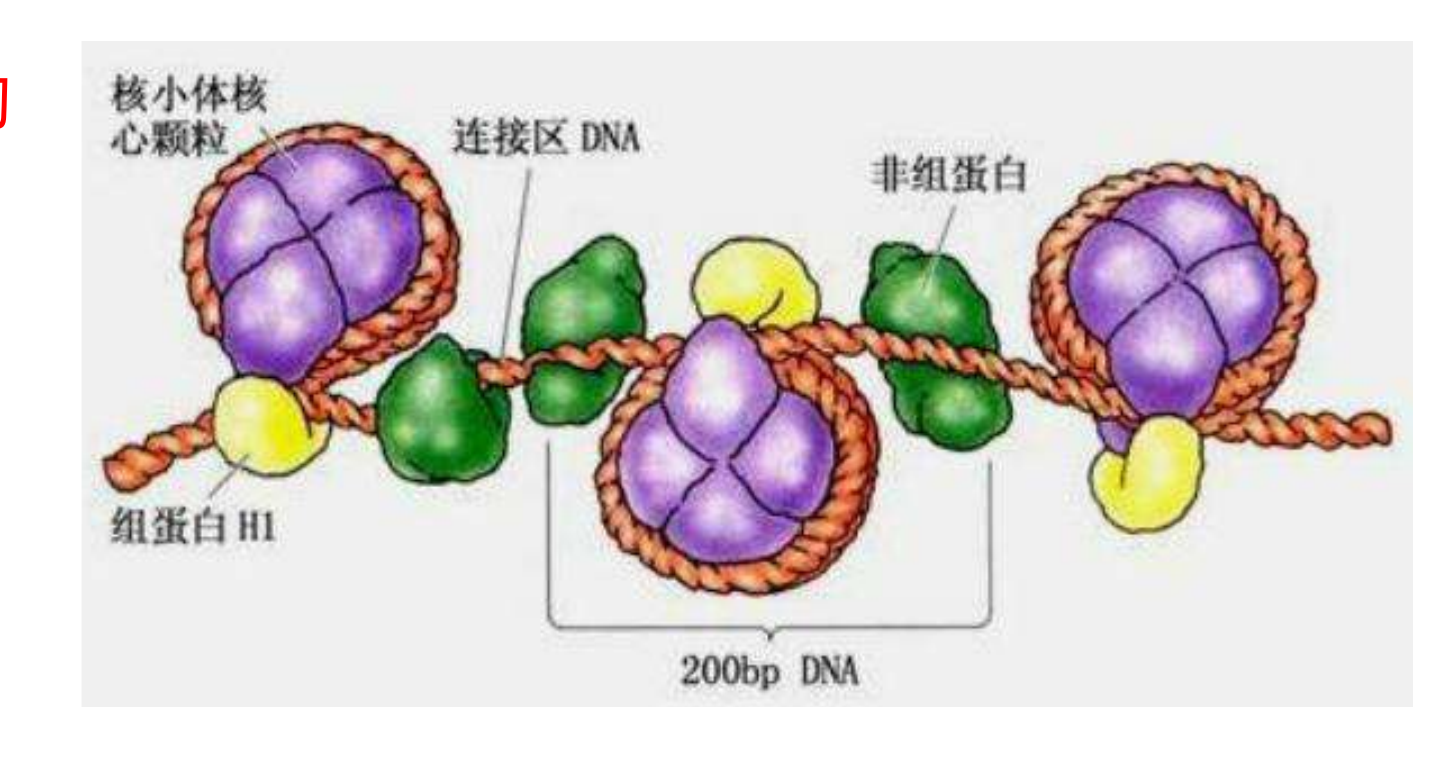


三、核小体

（二）核小体的结构

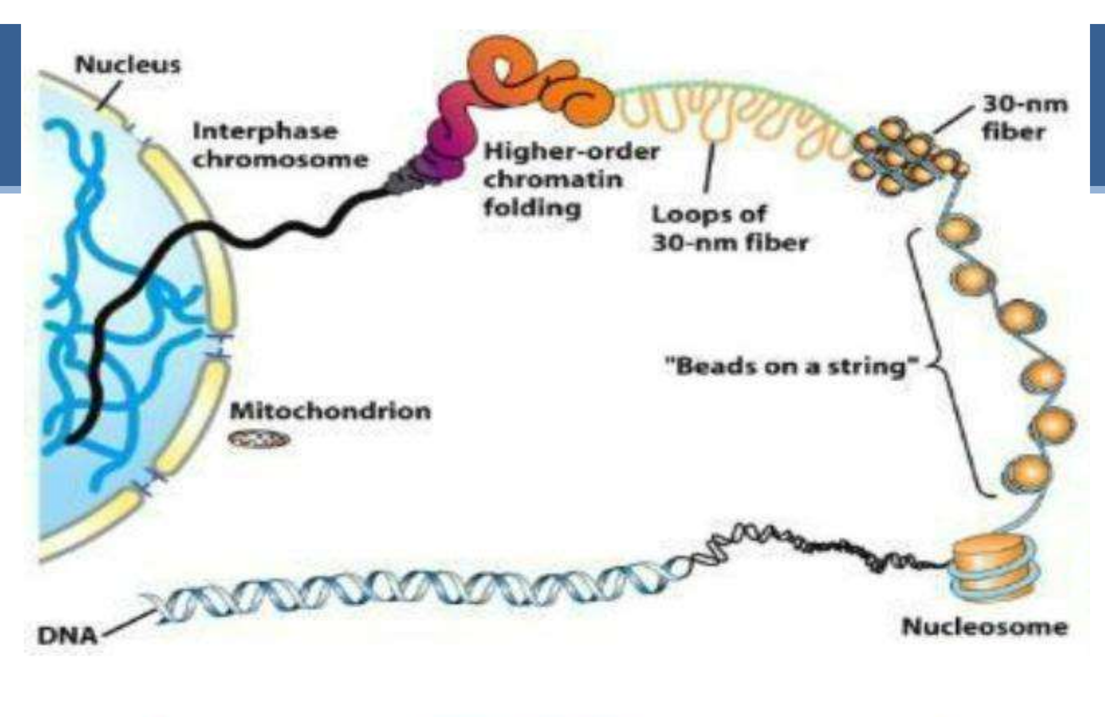
⑤组蛋白与DNA的相互作用是结构性的，基本上不依赖于核苷酸的特异性序列。

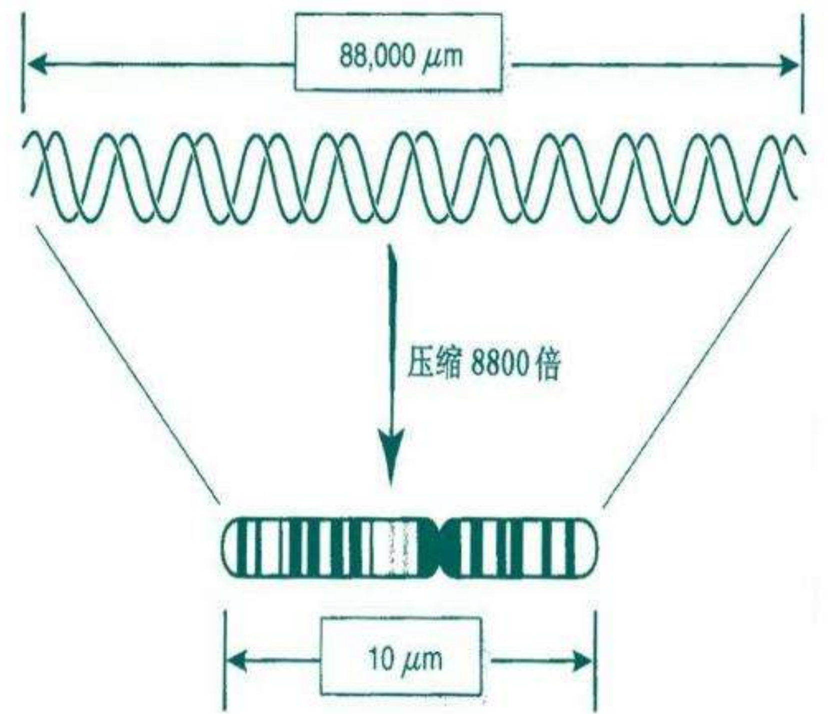
⑥核小体沿DNA的定位受不同因素的影响，如非组蛋白与DNA特异性位点的结合、DNA盘绕组蛋白核心的弯曲等。



四、染色质组装

- 动物细胞的细胞核的平均直径为5-8μm。
- 而人的一个二倍体细胞中有46条染色体，每条染色体（质）的DNA分子平均长5cm，总长约200cm。
- 即从DNA组装成染色体要压缩近万倍。
- 如何组装?



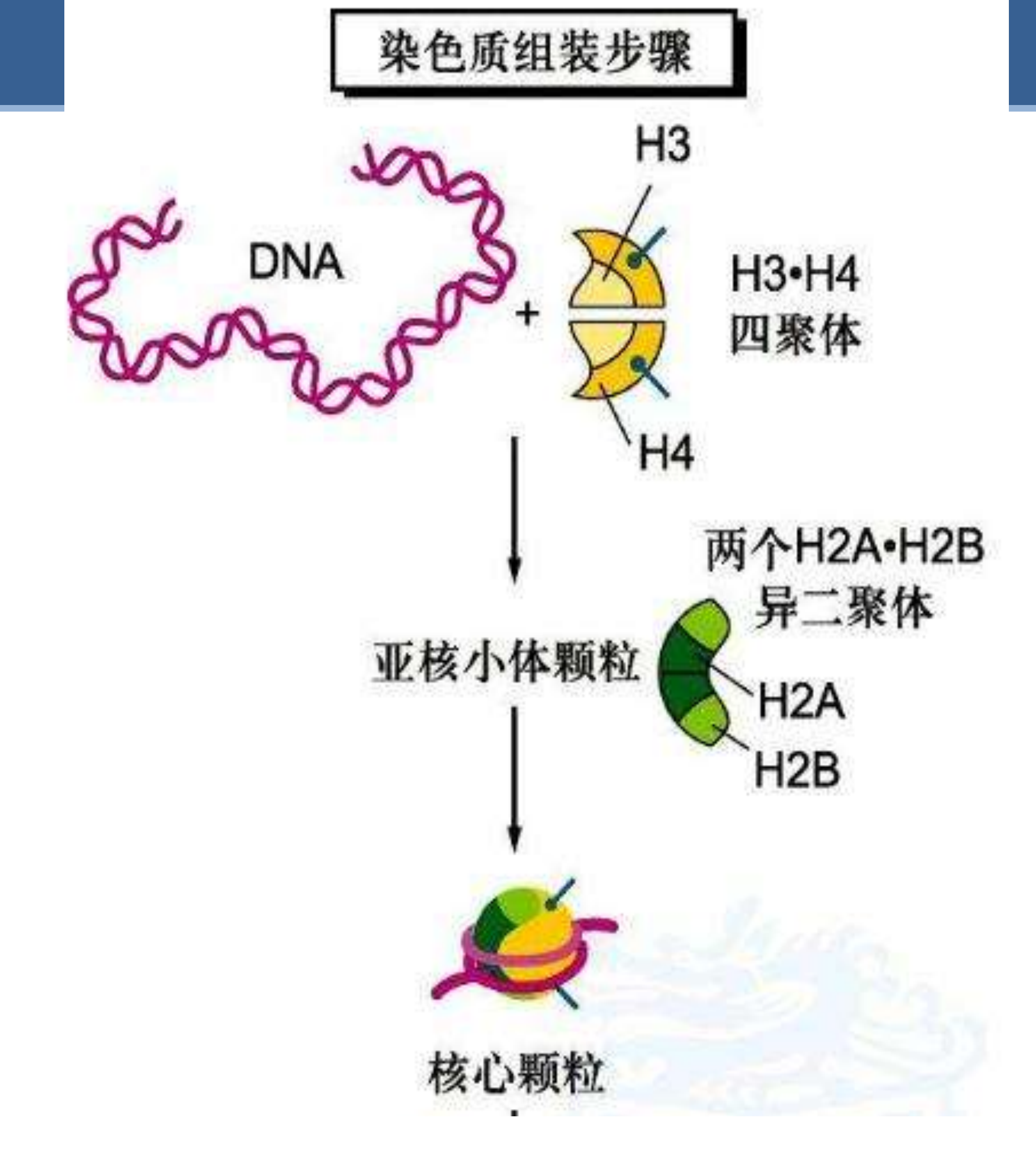


（一）染色质组装的前期过程

- DNA组装成染色质的过程：

  ①两个H3·H4异二聚体结合四聚体，再与新合成的DNA结合。

  ②再结合两个H2A·H2B异二聚体，形成一个核心颗粒，H4被乙酰化。



（一）染色质组装的前期过程

- DNA组装成染色质的过程：

  ③组蛋白去乙酰化；结合组蛋白H1，并伴随着核小体的折叠。

  ④6个核小体形成一个螺线管结构。

  ⑤染色质在细胞核中进一步折叠形成确定的结构。



（一）染色质组装的前期过程

- DNA组装成染色质的过程：

  ①两个H3·H4异二聚体结合四聚体，再与新合成的DNA结合。

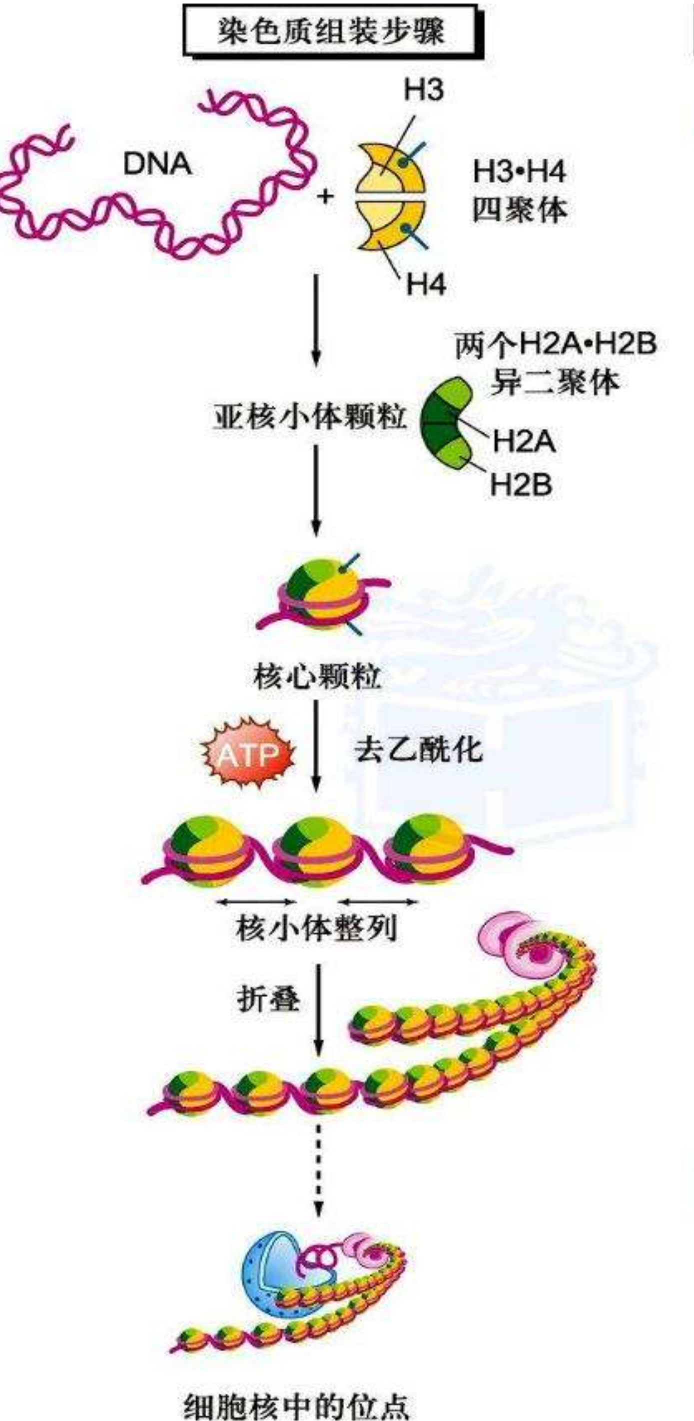
  ②再结合两个H2A·H2B异二聚体，形成一个核心颗粒，H4被乙酰化。

  ③组蛋白去乙酰化；结合组蛋白H1，并伴随着核小体的折叠。

  ④6个核小体形成一个螺线管结构。

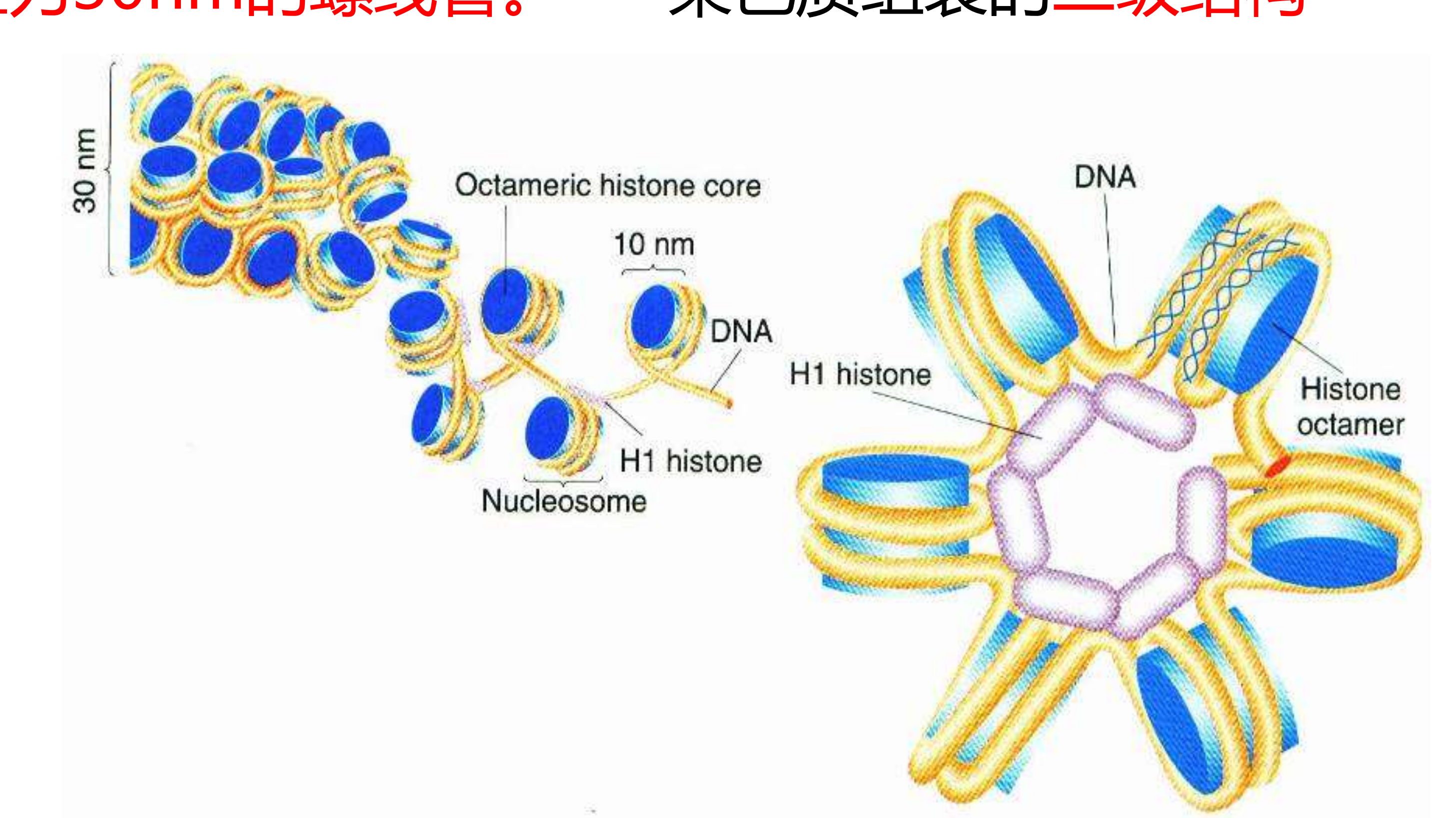
  ⑤染色质在细胞核中进一步折叠形成确定的结构。

- 许多作用因子参与整个组装过程。



（二）染色质组装的多级螺旋模型

- 首先，直径为2nm的DNA与组蛋白组装成核小体，并在组蛋白H1的介导下，核小体彼此连接形成直径为10nm的核小体串珠状结构。 →染色质组装的一级结构
- 然后，在有组蛋白H1存在的情况下，10nm的核小体串珠状结构螺旋盘绕，每盘绕一圈有6个核小体，形成中空的、外径为30nm的螺线管。 →染色质组装的二级结构
- 染色质一般是指30nm的螺线管



（二）染色质组装的多级螺旋模型

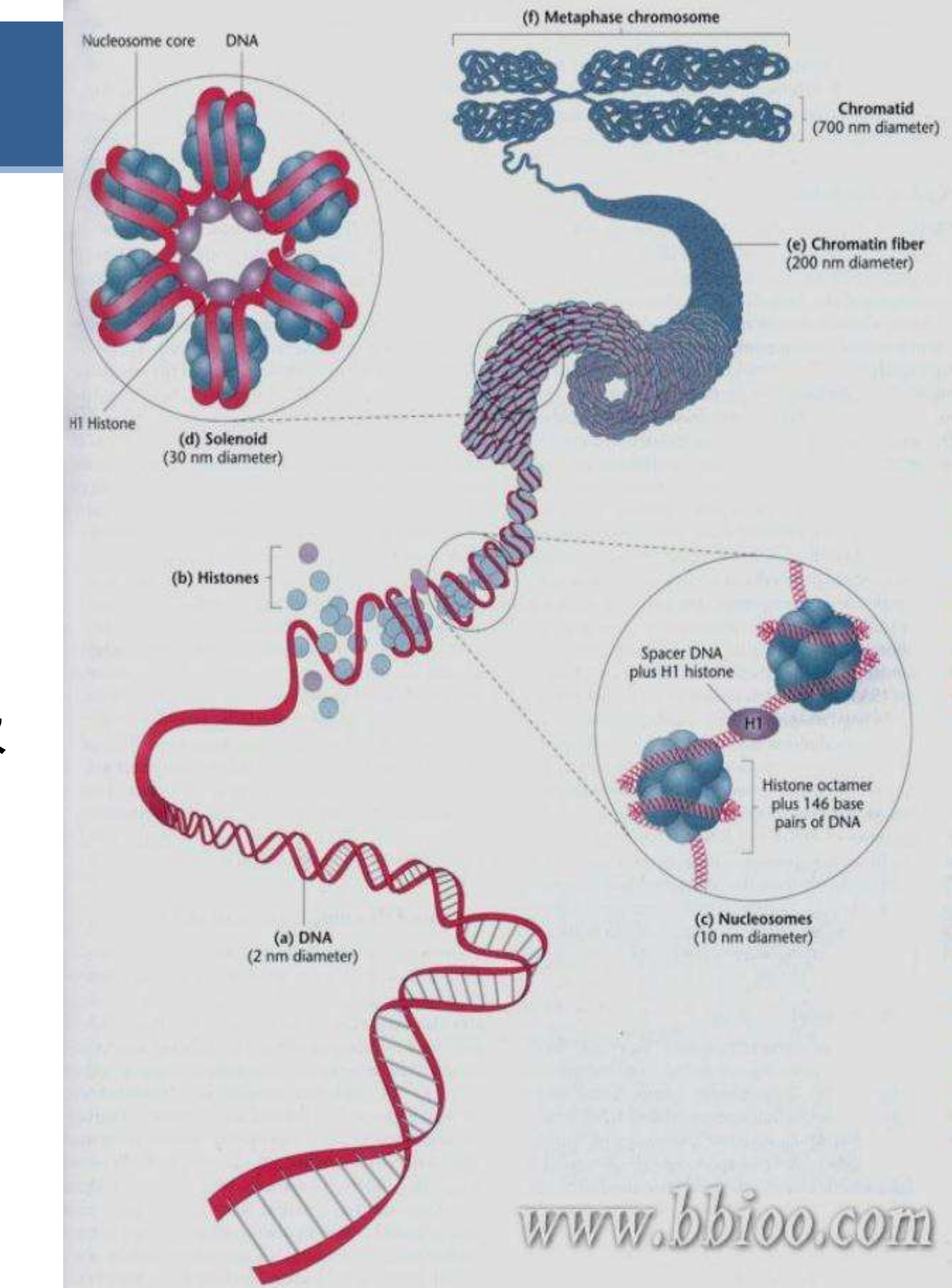
- 染色质组装的一级结构和二级结构：各种模型观点一致。
- 但从螺线管如何进一步组装成染色体，即染色体组装的高级结构还有不同观点。

四、染色质组装

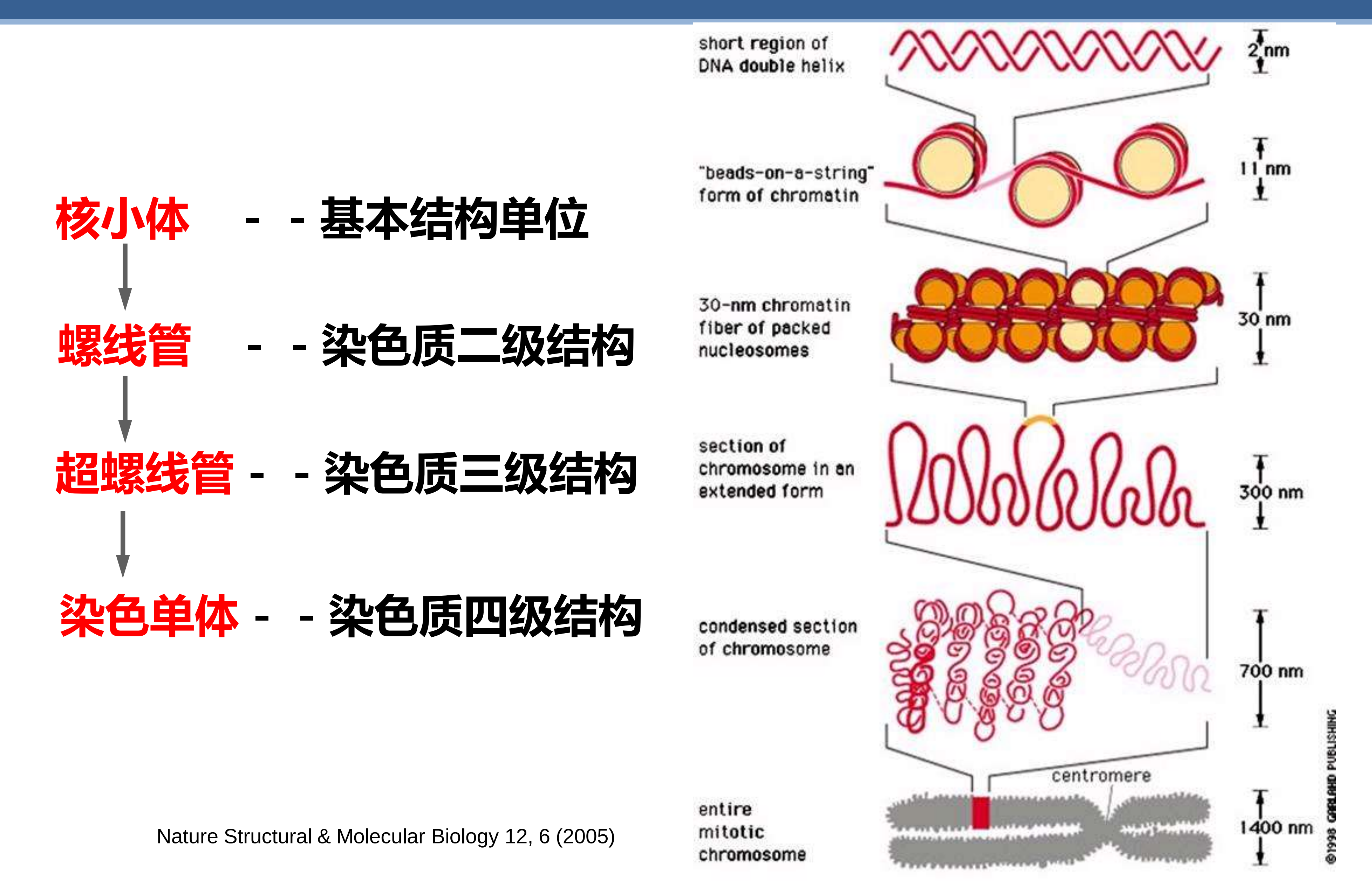
多级螺旋模型（最常见的一种观点）认为染色体的组装要经过四级螺旋:

- 前述两级螺旋；30nm螺线管再螺旋盘绕形成中空的、直径为0.4μm的超螺线管——三级结构。
- 超螺线管进一步螺旋折叠，形成长度为2 - 10μm的染色单体——四级结构，也是最后一级结构。
- 这样，一条DNA链经过四级螺旋，共被压缩了8000-10000倍。

DNA —压缩 7 倍→ 核小体 —压缩 6 倍→ 螺线管 —压缩 40 倍→ 超螺线管 —压缩 5 倍→ 染色单体



（二）染色质组装的多级螺旋模型



Nature Structural & Molecular Biology 12, 6 (2005)

五、染色质类型

- 常染色质（euchromatin）
- 异染色质 （heterochromatin）
  - 结构异染色质或组成型异染色质 (constitutive heterochromatin)
  - 兼性异染色质 (facultative heterochromatin)

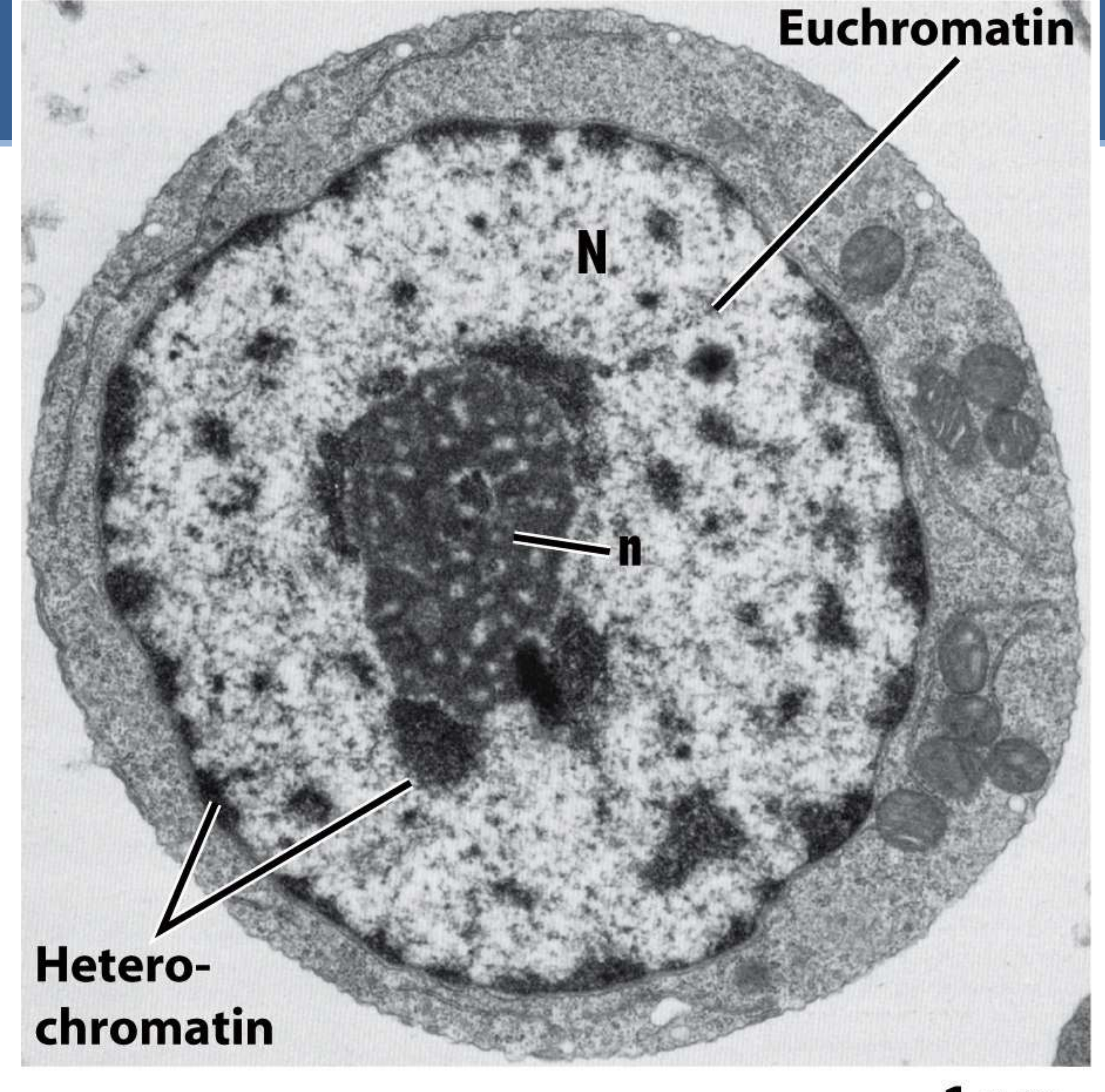


Figure 6-33a
Molecular Cell Biology, Sixth Edition

（一）常染色质与异染色质

- **常染色质**是指间期核内染色质纤维折叠压缩程度低，处于伸展状态，用碱性染料染色时着色浅的那些染色质。
- **异染色质**是指间期核中，染色质纤维折叠压缩程度高，处于聚缩状态，用碱性染料染色时着色深的那些染色质。
  - 结构异染色质或组成型异染色质指的是各种类型的细胞，除复制期以外，在整个细胞周期均处于聚缩状态，DNA包装比在整个细胞周期中基本没有较大变化的异染色质。
  - 兼性异染色质是指在某些细胞类型或一定的发育阶段，原来的常染色质聚缩，并丧失基因转录活性，变为异染色质。

（一）常染色质与异染色质

- 结构异染色质或组成型异染色质指的是各种类型的细胞，除复制期以外，在整个细胞周期均处于聚缩状态，DNA包装比在整个细胞周期中基本没有较大变化的异染色质。

结构异染色质特征：

- ①在中期染色体上多定位于着丝粒区、端粒、次缢痕及染色体臂的某些节段；
- ②由相对简单、高度重复的DNA序列构成，如卫星DNA；
- ③具有显著的遗传惰性，不转录也不编码蛋白质；
- ④在复制行为上与常染色质相比表现为晚复制早聚缩；
- ⑤占有较大部分核DNA，在功能上参与染色质高级结构的形成，导致染色质区间性（表达调控有关），作为核DNA的转座元件，引起遗传变异。

（一）常染色质与异染色质

- 兼性异染色质是指在某些细胞类型或一定的发育阶段，原来的常染色质聚缩，并丧失基因转录活性，变为异染色质。

这类兼性异染色质的总量随不同细胞类型而变化，一般胚胎细胞含量很少，而高度特化的细胞含量较多，说明随着细胞分化，较多的基因渐次以聚缩状态而关闭，从而再也不能接近基因活化蛋白。

因此，染色质通过紧密折叠压缩可能是关闭基因活性的一种途径。

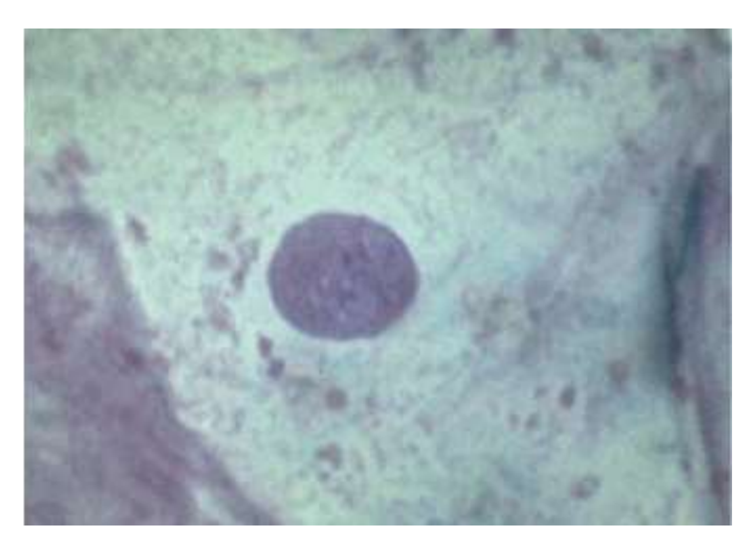
（一）常染色质与异染色质

- 兼性异染色质是指在某些细胞类型或一定的发育阶段，原来的常染色质聚缩，并丧失基因转录活性，变为异染色质。

目前兼性异染色质中了解最多的是雌性哺乳类动物的X染色体。两个X染色体中的一个染色体常表现为异染色质，称巴氏小体（Barr body）。

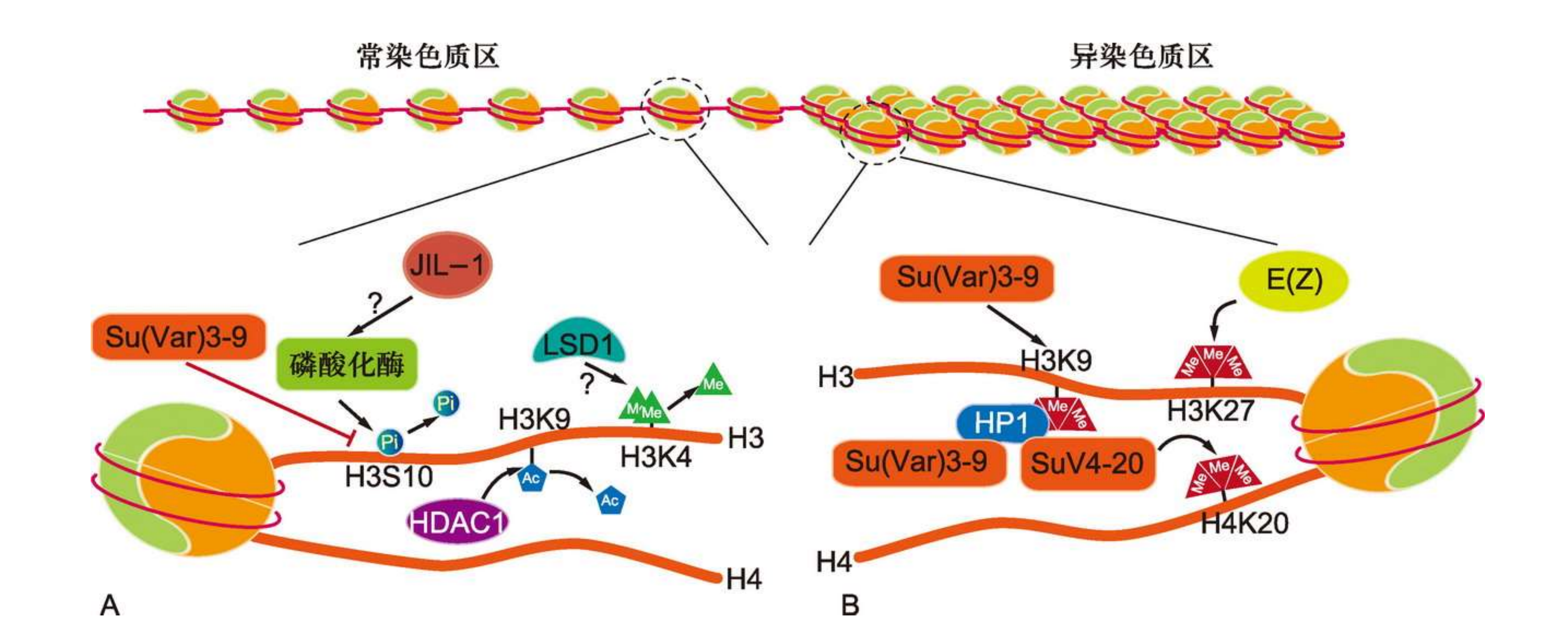
人的胚胎发育到16天以后， 出现巴氏小体。检查羊水中胚胎细胞 的巴氏小体可以预报胎儿的性别。





（二）常染色质与异染色质间的转变

- **异染色质或常染色质之间随着发育时期或细胞周期的变化可能相互转化**
- **异染色质与常染色质之间的转变，常常需要组蛋白与DNA 修饰**



（三）活性染色质与非活性染色质

- **活性染色质(active chromatin)**
  - 具有转录活性
  - 具有疏松的染色质结构

- **非活性染色质(inactive chromatin)**
  - 没有转录活性

1. 活性染色质对DNase Ⅰ超敏感

- 凡有基因表达活性的染色质DNA 对 DNase I 的降解作用比没有转录活性的染色质DNA要敏感得多。

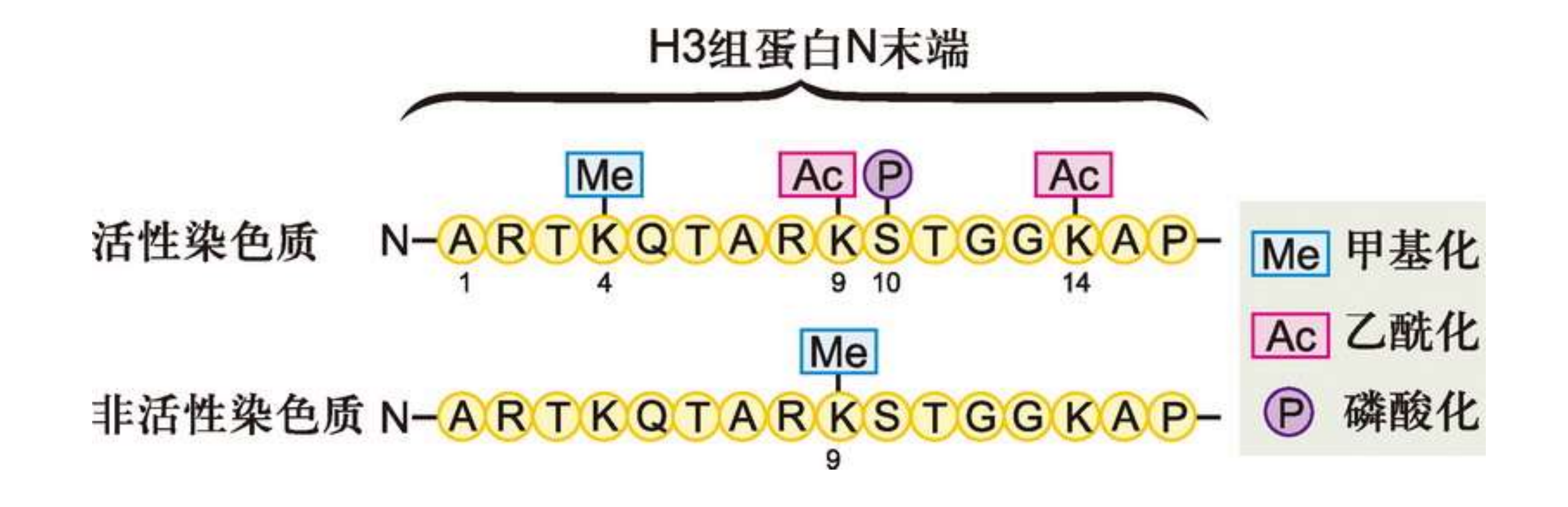
- 进一步发现，正在转录或具有潜在转录活性而未转录的基因对DNase Ⅰ同样敏感，说明活性染色质对 DNase I 的优先敏感性不是由于转录过程中RNA 聚合酶的作用，而是可转录染色质的一个基本特征。

2. 活性染色质的蛋白组成与修饰变化

- 活性染色质很少有组蛋白H1 与其结合
- 与非活性染色质相比，活性染色质上组蛋白乙酰化程度高
- 与非活性染色质相比，活性染色质核小体组蛋白H2B很少被磷酸化
- 核小体组蛋白H2A 在活性染色质中很少有变异形式存在
- 组蛋白H3 变种H3.3 只在活跃转录的染色质中出现
- HMG14 和HMG17 （两种非组蛋白）只存在于活性染色质中，与DNA 结合（对DNase Ⅰ超敏感的关键）

2. 活性染色质的蛋白组成与修饰变化

- **活性染色质标志：** N-端第4个赖氨酸的甲基化，第9 和14 个赖氨酸的乙酰化以及第10 个丝氨酸的磷酸化；
- **非活性染色质标志：** N-端第9个赖氨酸甲基化而不是乙酰化

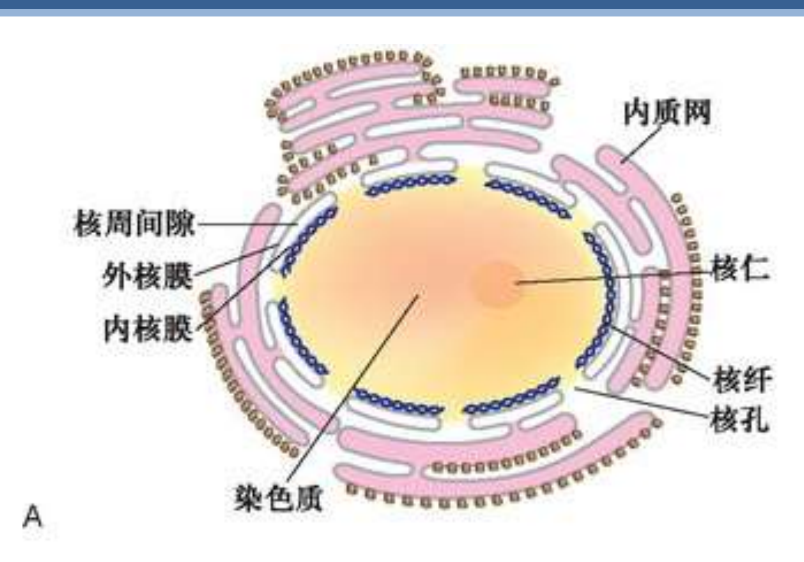


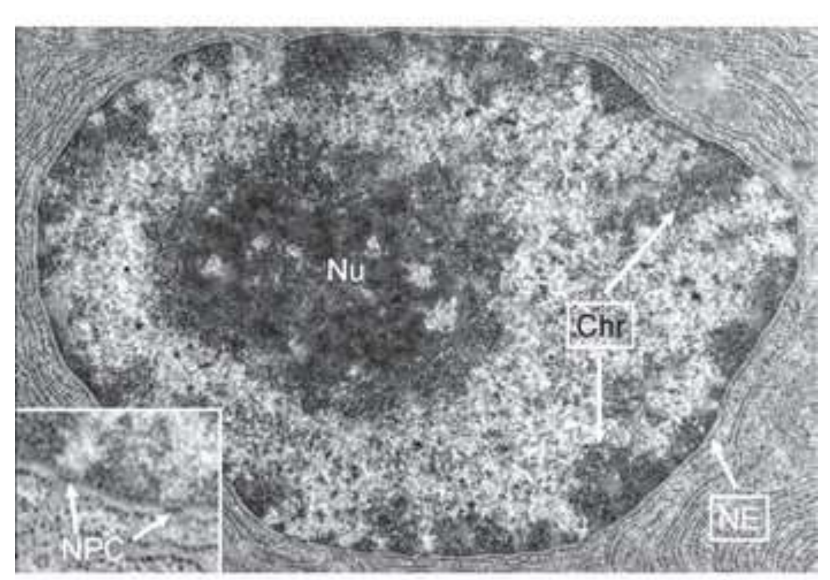
第二节 染色质——小结

- 核被膜生物学意义：一方面构成核、质之间的天然选择性屏障；另一方面介导核质之间的物质交换与信息交流 。
- 核孔复合体：1. 胞质环；2. 核质环；3. 辐；4. 中央栓。
- NPC的功能：核质交换的双向、双功能、选择性亲水性通道。
- 核小体结构要点
- 染色质组装模型：多级螺旋模型、骨架-放射环模型

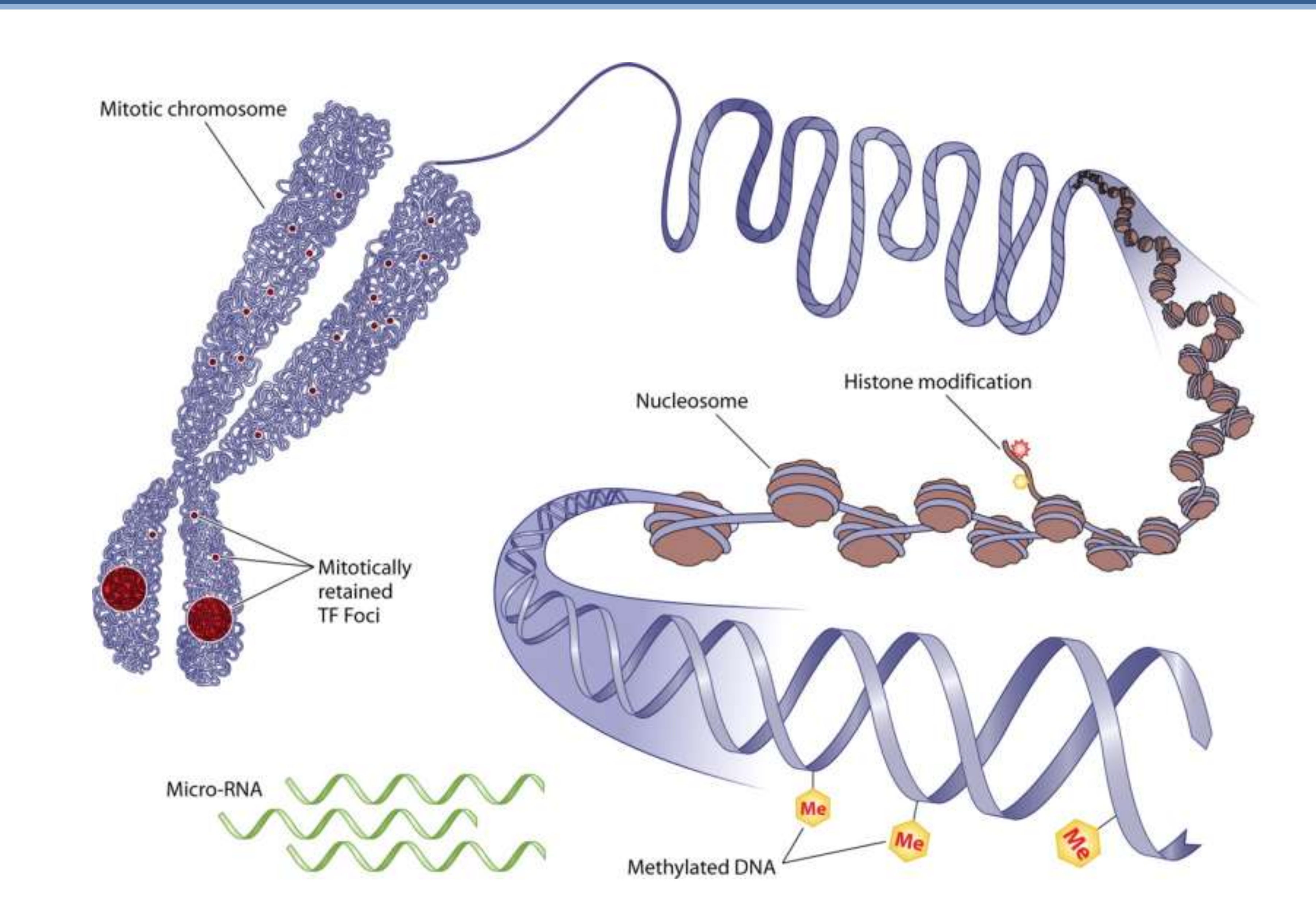
本章主要内容

- *核被膜
- *染色质
- 染色质的复制与表达
- *染色体
- *核仁与核体
- 核基质





四、染色质与表观遗传



Mitotic chromosome
Histone modification
Nucleosome
Mitotically
retained
TF Foci
Micro-RNA
Me
Me
Me
Methylated DNA

影响基因表达的遗传变异因素

●基因突变（错义突变）

●基因缺失/倍增

●染色体结构及数目变异

问题：

基因表达的变化（或性状的变化）一定是DNA序列变异的结果吗？

同卵双生的双胞胎虽然具有相同的DNA序列，

却存在表型的差异和疾病易感性的差异。



可以在不影响DNA序列的情况下改变基因组的修饰．这种改变不仅可以影响个体的发育，而且还可以遗传下去。

（一）表观遗传与遗传

- **遗传学变化**通过DNA 序列突变实现的，通过生殖细胞得以遗传
- **表观遗传变化**通过组蛋白和DNA 不同修饰实现，只在体细胞中出现。



概念：指基因的DNA序列不发生改变的情况下，基因的表达水平与功能发生改变，并产生可遗传表型的遗传学分支学科。

表观遗传学的研究内容：

- **基因选择性转录表达的调控**
  - DNA甲基化
  - 基因印记
  - 组蛋白共价修饰
  - 染色质重塑

- **基因转录后的调控**
  - 基因组中非编码RNA
  - 微小RNA（miRNA）
  - 反义RNA
  - 内含子、核糖开关等

第四节 染色体

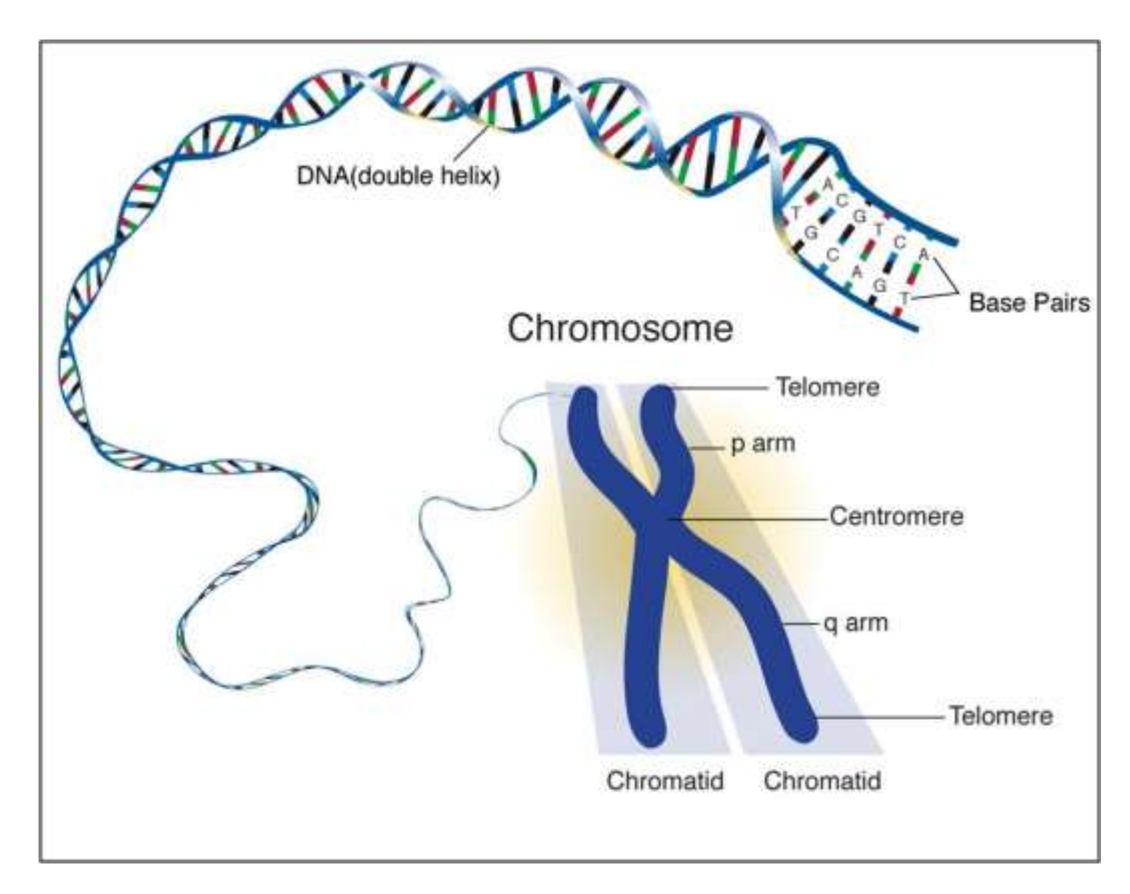


表 11-6 不同生物的基因组大小和染色体数目

物种	基因组大小 /Mb	染色体数目
芽殖酵母	12	16
黏霉菌（*Dictyostelium*）	70	7
拟南芥	125	5
秀丽隐杆线虫	97	6
果蝇	180	4
非洲爪蟾	3 000	18
玉米	5 000	10
洋葱	15 000	8
百合（*Lilium*）	50 000	12
肺鱼（*Neoceratodus forsteri*）	50 000	17
鸡（*Gallus gallus*）	1 200	39
小鼠（*Mus musculus*）	3 000	20
牛（*Bos taurus*）	3 000	30
狗（*Canis lupus*）	3 000	39
人	3 000	23

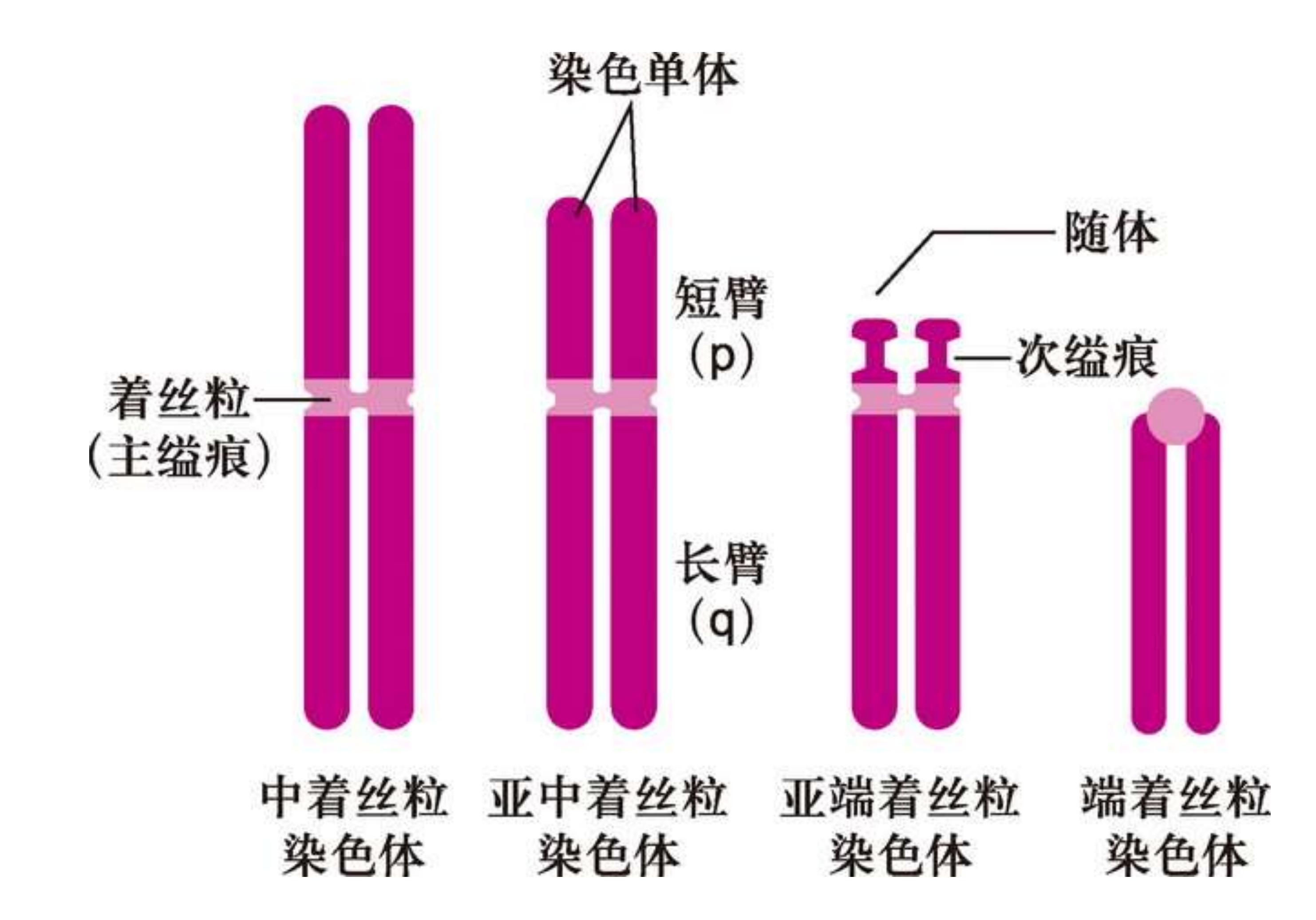
基因组大小和染色体数目都是单倍体。

http://www.cdhgenetics.com/userfiles/images/chrom_DNA.jpg

一、染色体形态结构

- 由两条相同的姐妹染色单体构成，彼此以着丝粒相连
- 根据着丝粒在染色体上所处的位置，分为4 种类型

由于着丝粒区浅染内缢， 所以也叫主缢痕

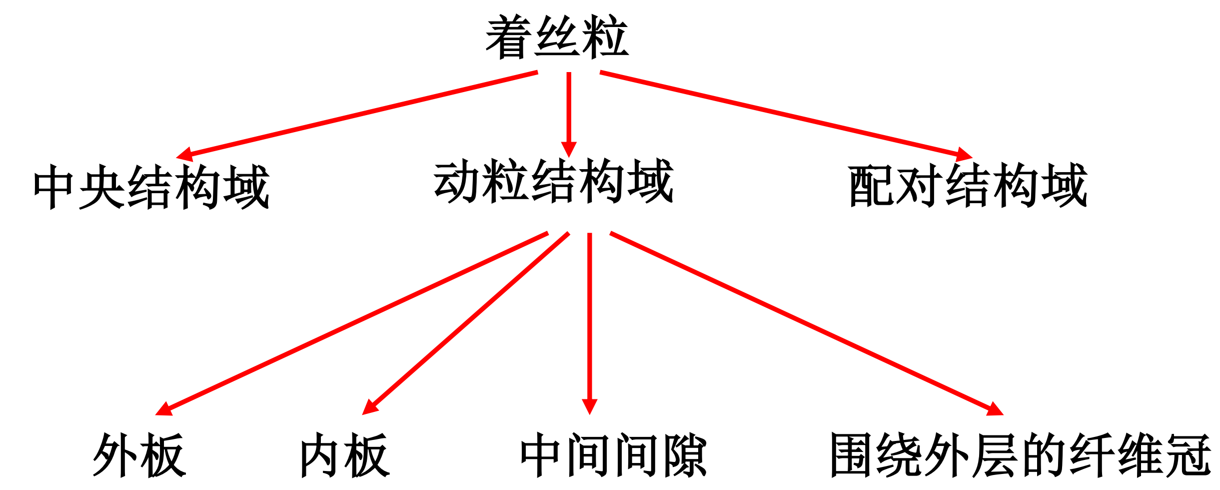


一、染色体形态结构——着丝粒与动粒

- **着丝粒**指中期染色单体相互联系在一起的特殊部位；

- **动粒**指主缢痕处两个染色单体外侧表层部位的特殊结构，它与纺锤丝微管相接触。

着丝粒
（主缢痕）
染色体臂
配对结构域
中央结构域
动粒结构域
纤维冠
外板
中间间隙
内板

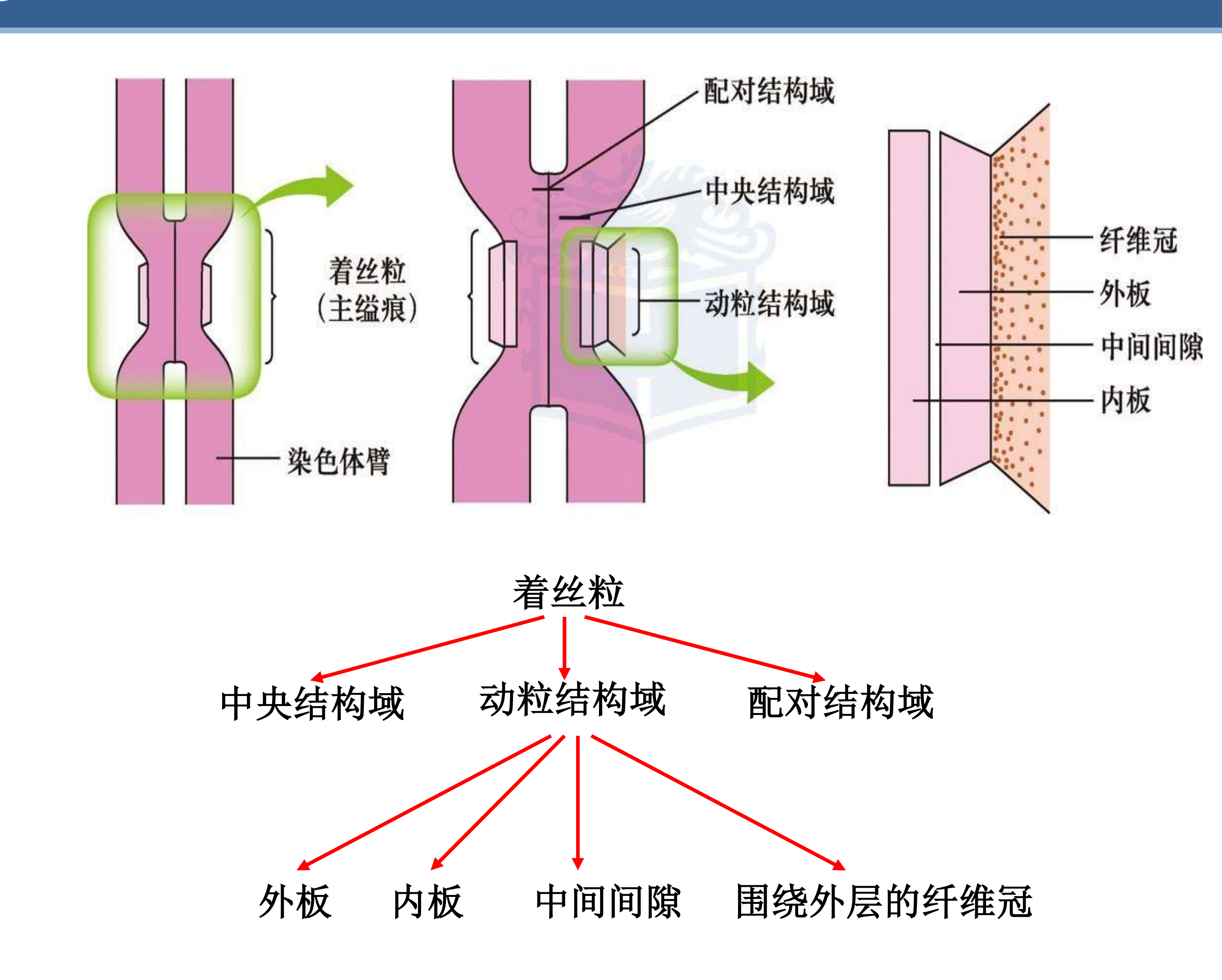


一、染色体形态结构

着丝粒由3个结构域构成：

（1）动粒结构域
（2）中央结构域

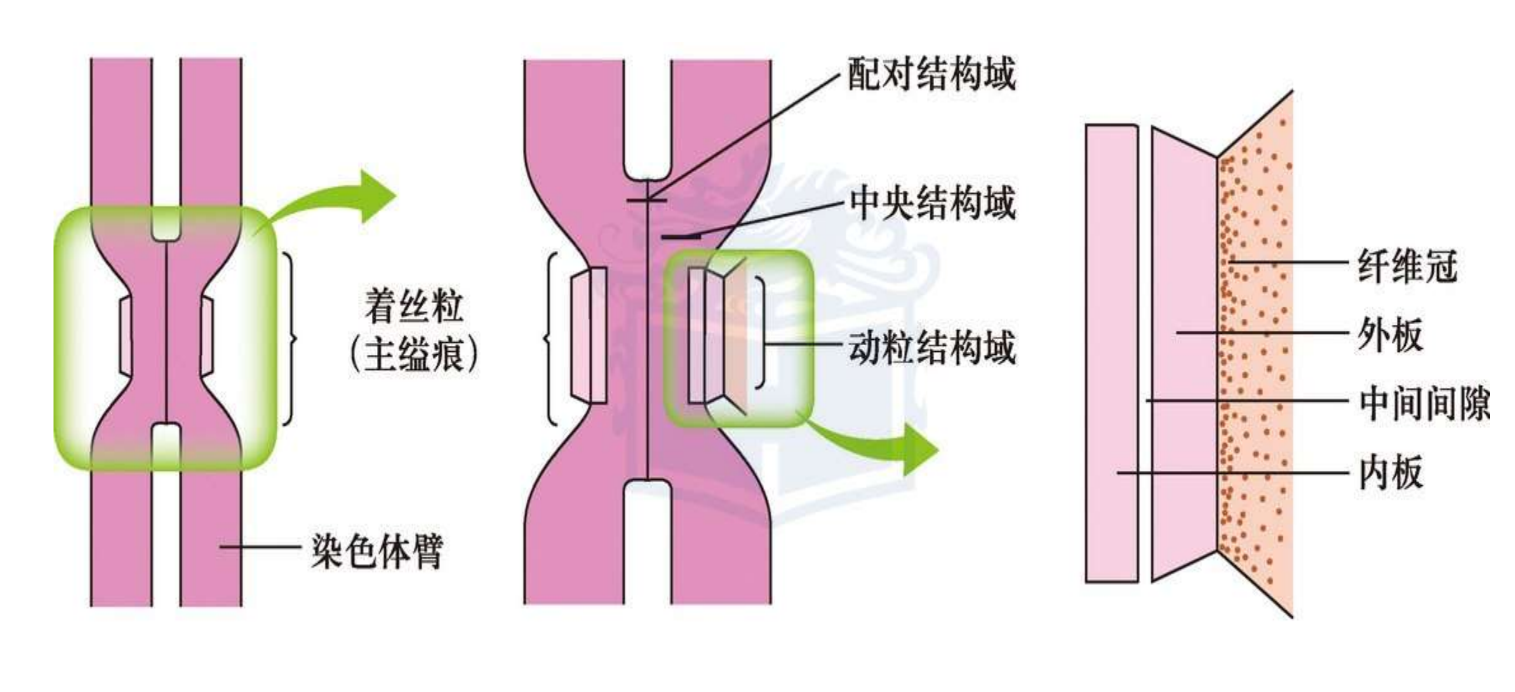
- 着丝粒的主体结构。由串联排列的高度重复序列DNA及一些动粒蛋白（CENP-A, B, C, E, F）组成。动粒蛋白与细胞分裂及其调控有关。



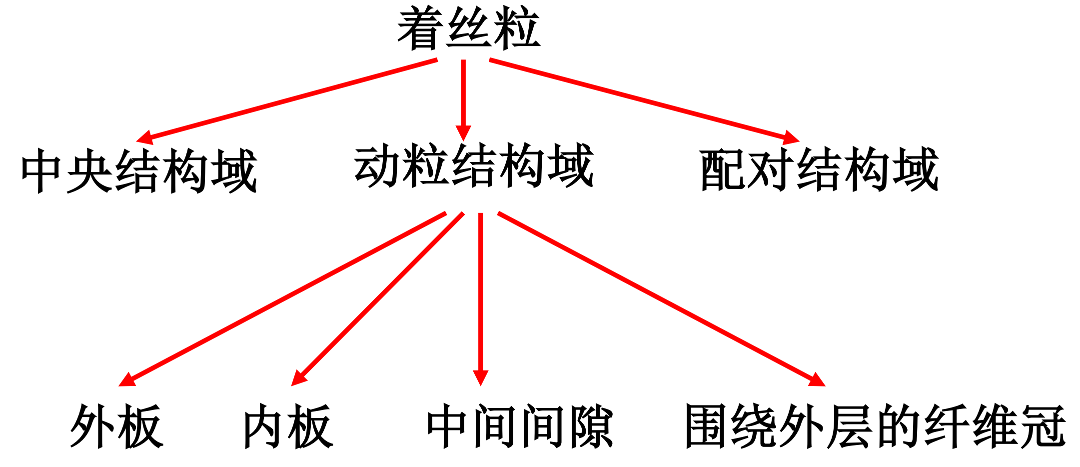
一、染色体形态结构

着丝粒由3个结构域构成：

（1）动粒结构域
（2）中央结构域
（3）配对结构域



- 位于着丝粒的内表面，为2条染色单体相互作用的位点。



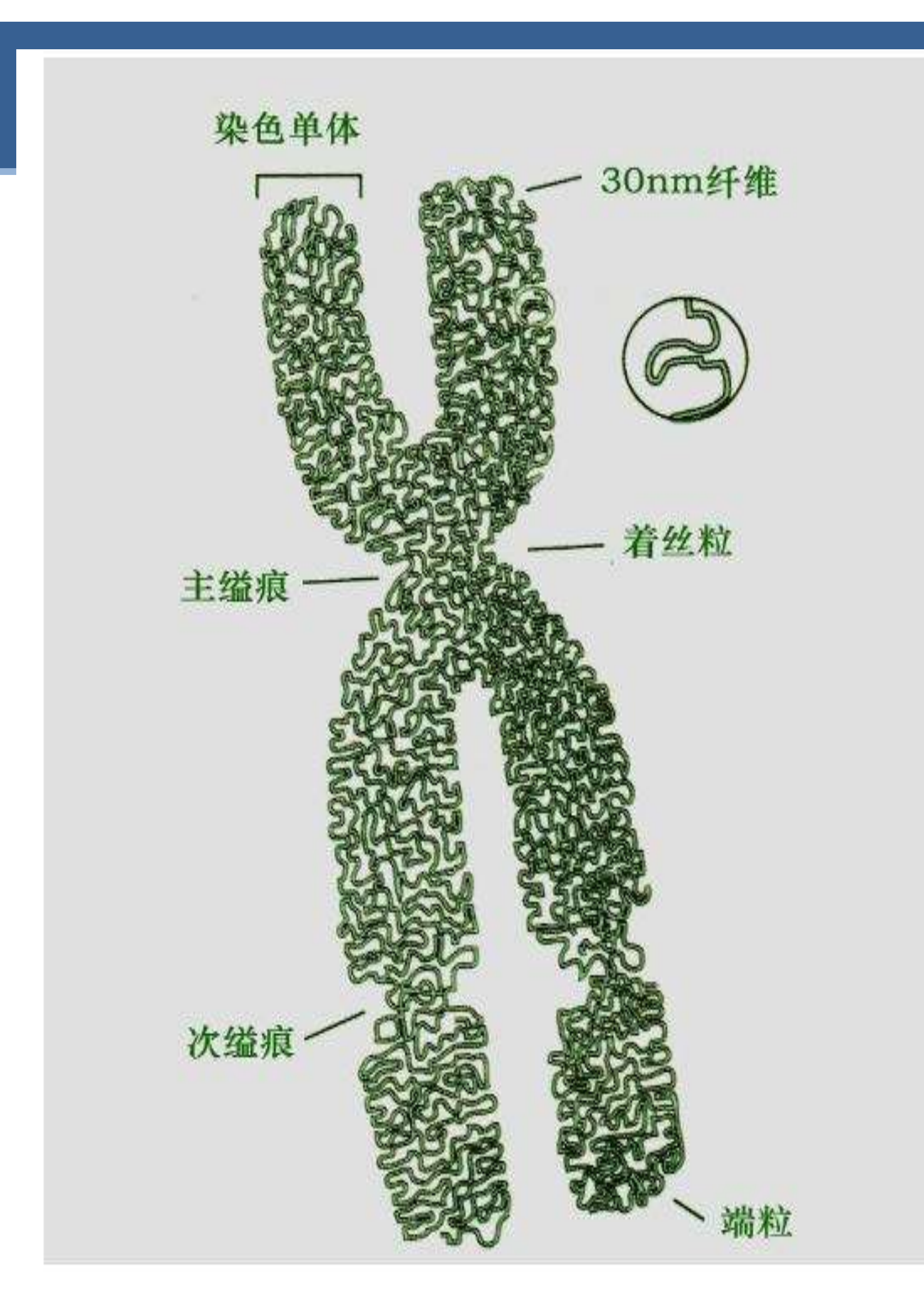
一、染色体形态结构

（二）次缢痕

- 除主缢痕外，在染色体上的内缢、浅染部位。
- 次缢痕的位置、数目和大小是鉴别染色体的重要形态特征。

（三）核仁组织区（nucleoar organizing region，NOR）

- 位于染色体的次缢痕部位，但并非所有的次缢痕都是核仁组织区。

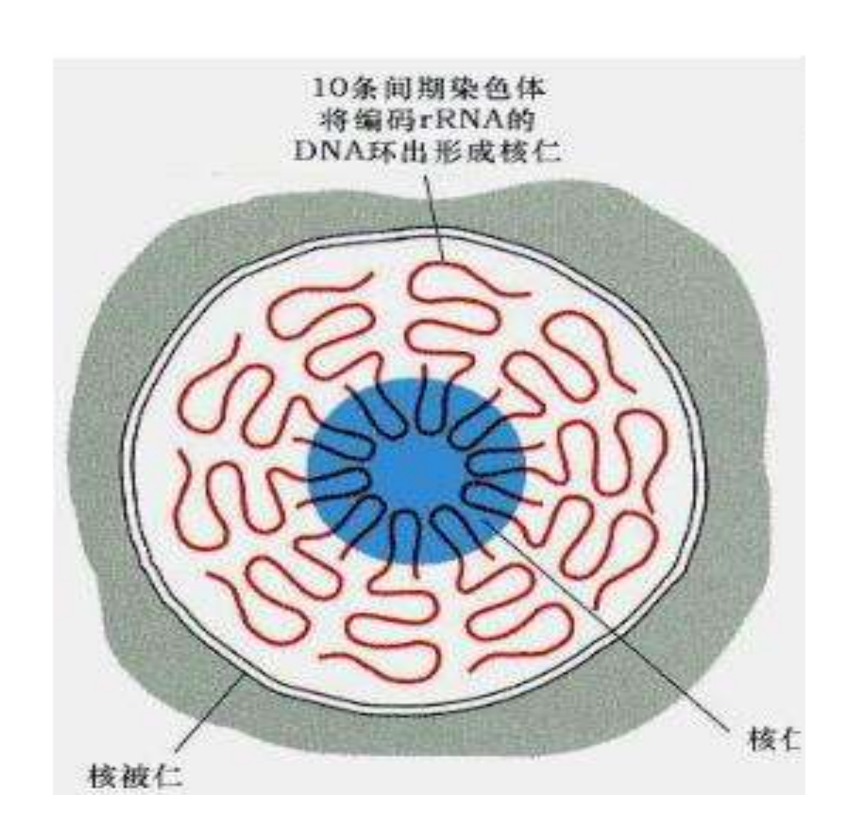


一、染色体形态结构

（三）核仁组织区（nucleoar organizing region，NOR）

- 位于染色体的次缢痕部位，但并非所有的次缢痕都是核仁组织区。
- 核仁组织区是除5S rRNA基因外的其它3种rRNA（28S、18S、5.8S）基因所在部位，具有组织形成间期细胞核仁的能力，故称核仁组织区。

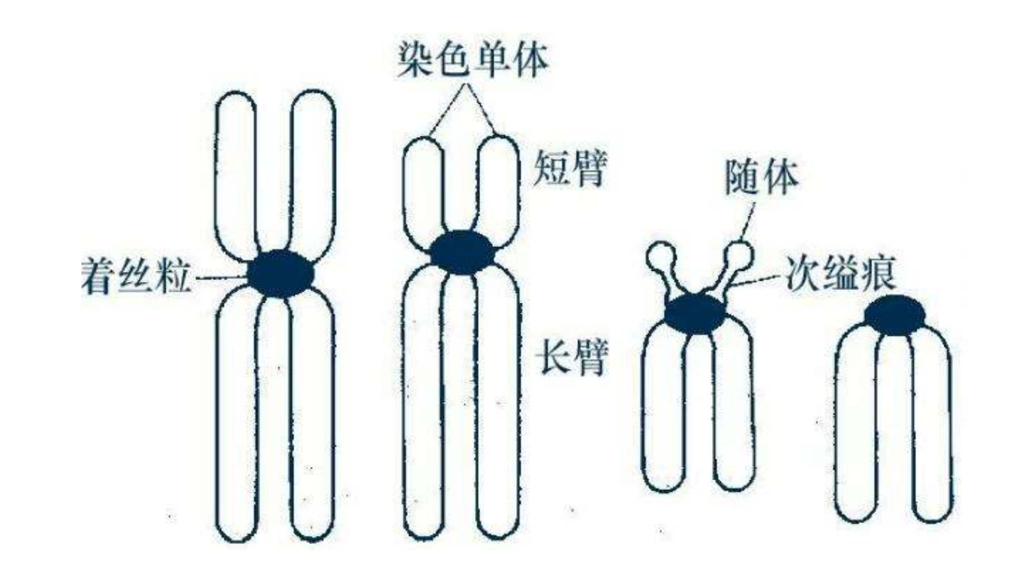




一、染色体形态结构

（四）随体

- 位于染色体末端的球形节段，通过次缢痕与染色体主体部分相连；
- 随体的有无和形状也是鉴别染色体的重要形态特征之一。有随体的染色体称为 sat 染色体。



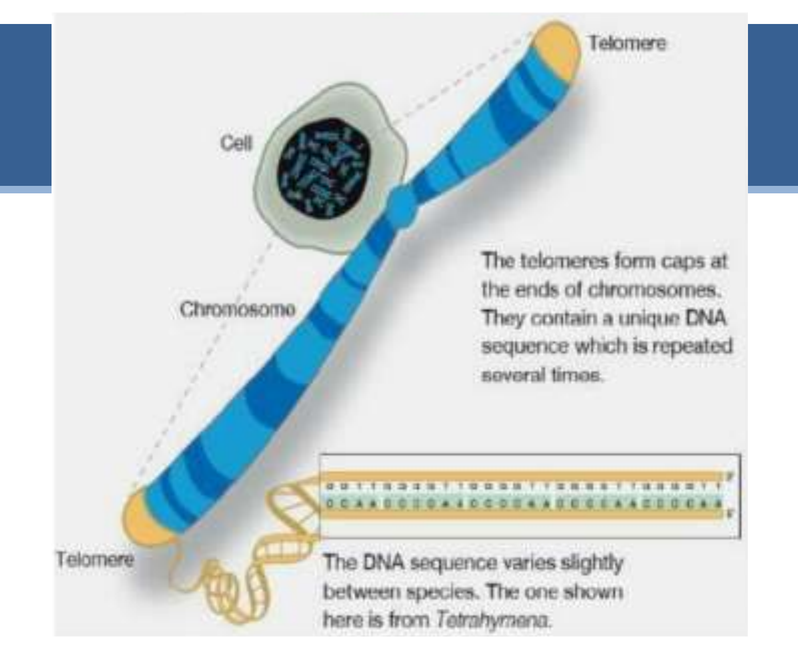
1 279 Mb　2 251 Mb　3 221 Mb　4 197 Mb　5 198 Mb　6 176 Mb　7 163 Mb　8 148 Mb　9 140 Mb

10 143 Mb　11 148 Mb　12 142 Mb　13 118 Mb　14 107 Mb　15 100 Mb　16 104 Mb　17 88 Mb　18 86 Mb

19 72 Mb　20 66 Mb　21 45 Mb　22 48 Mb　X 163 Mb　Y 51 Mb

一、染色体形态结构

（五）端粒



- 是染色体两个端部的特化结构，由端粒DNA和端粒蛋白构成。

- 端粒DNA为短的、富含G碱基的、串联重复DNA序列。一个基因组内的所有端粒都是由相同的重复序列组成，但不同物种的端粒的重复序列是不同的。哺乳类和其他脊椎动物端粒的重复序列中的保守序列是TTAGGG，串联重复500~3000次，序列长度在2 kb 到20 kb之间不等。

- 端粒的作用在于维持染色体的完整性和个体性；还与染色体的空间排布及减数分裂时同源染色体的配对有关。

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2009

三名科学家，他们解决了生物学的一个重大问题：在细胞分裂时染色体如何完整地自我复制以及染色体如何受到保护以免于退化。这三位诺贝尔奖获得者已经向我们展示，解决办法存在于染色体末端—端粒，以及形成端粒的酶—端粒酶。

“携带基因信息的DNA线状长分子挤压形成染色体，端粒就像一顶高帽子置于染色体头上。”



Photo: U. Montan

Elizabeth H. Blackburn



Photo: U. Montan

Carol W. Greider



Photo: U. Montan

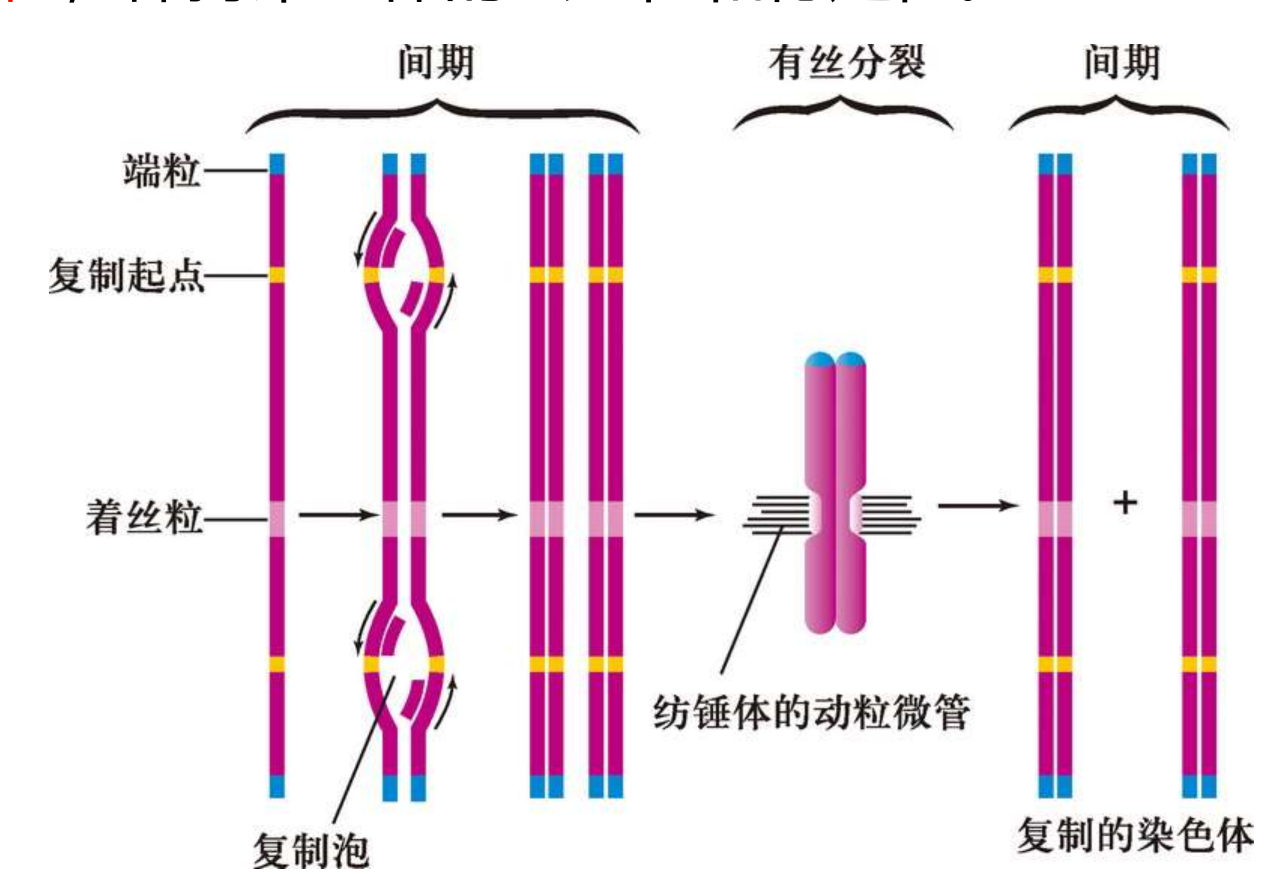
Jack W. Szostak

二、染色体的功能元件

1、至少一个DNA复制起点，确保染色体在细胞周期中能够自我复制，维持染色体在细胞世代传递中的连续性；

2、一个着丝粒，使细胞分裂时已完成复制的染色体能平均分配到子细胞中；

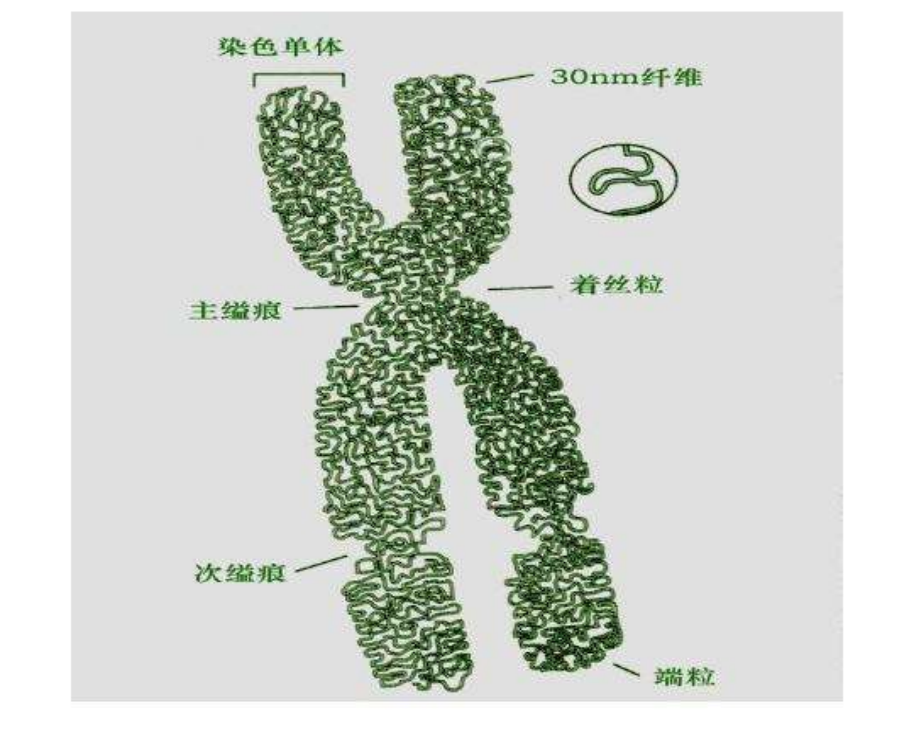
3、最后，在染色体的两个末端必须有端粒，保持染色体的独立性和稳定性。



二、染色体的功能元件

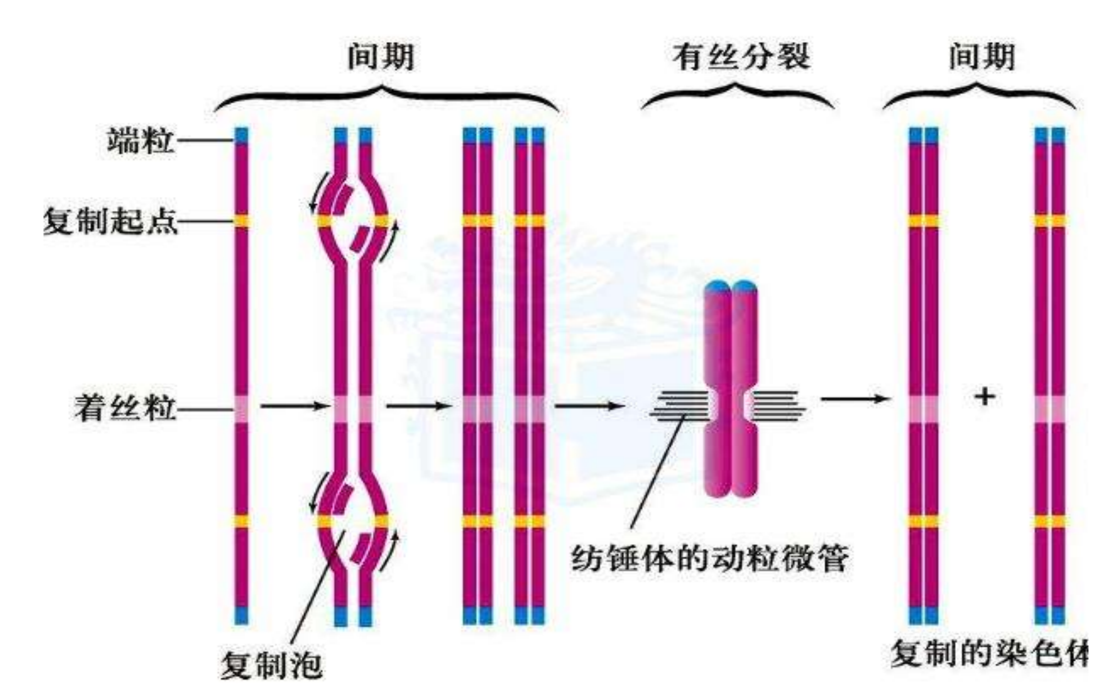
（一）自主复制DNA序列

- 具有一段由11-14bp组成的、同源性很强的、富含AT的共有序列。这段序列及其上、下游各200个bp左右的区域对于维持自主复制功能所必需。



（二）着丝粒DNA序列

- 有两个彼此相邻的核心区，一个是80-90bp的AT区，另一个是11bp的保守区。该序列与染色体的分离有关。

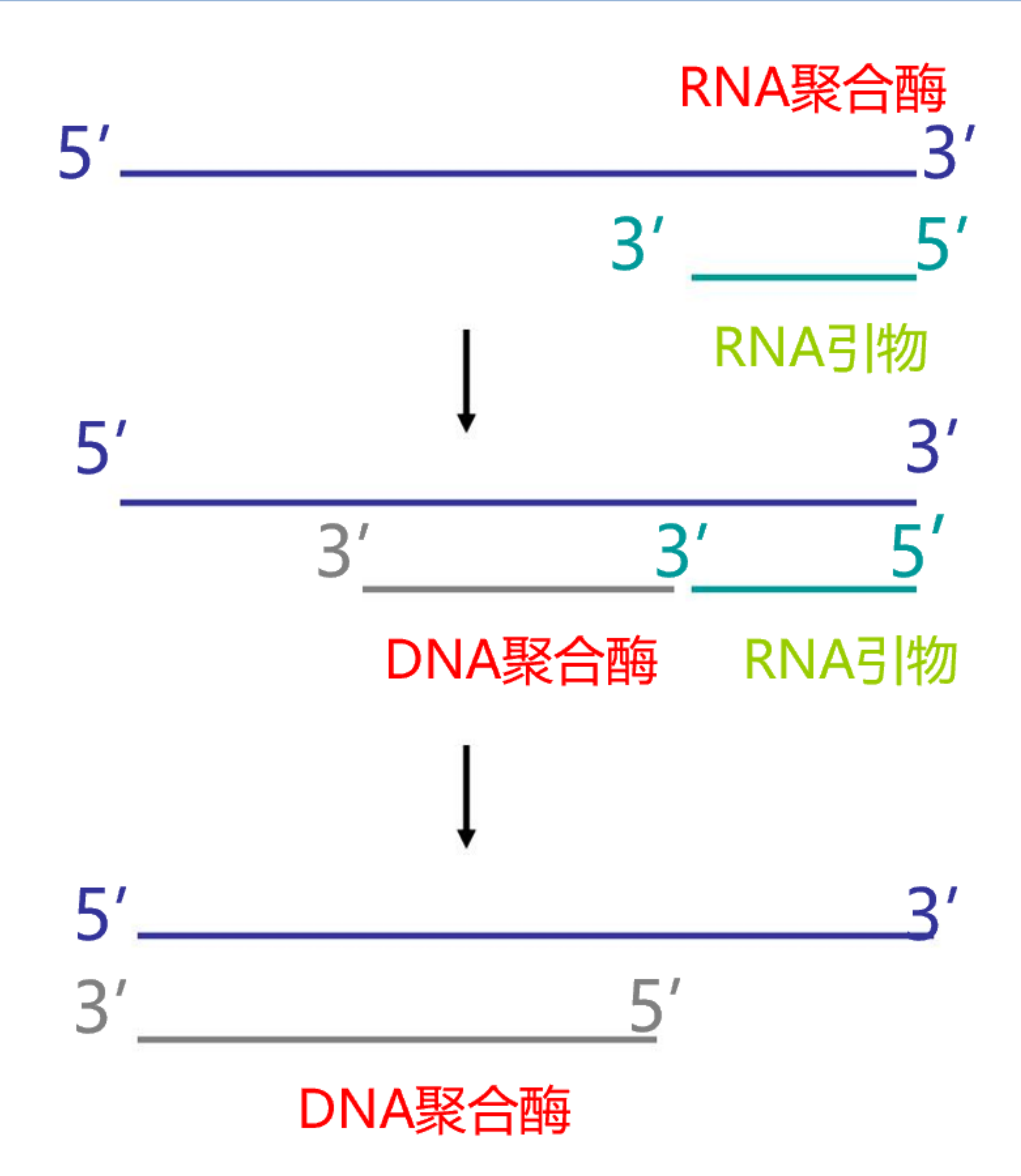


二、染色体的功能元件

（三）端粒DNA序列

➢ DNA的复制：

- DNA复制的起始是先由RNA聚合酶在起始因子的作用下，与DNA母链3'端结合，合成一段RNA引物，提供了一个3'端羟基。
- 这样，DNA聚合酶才能接着引物对母链进行复制、延伸。
- 当子链复制延伸启动后，子链5'端的RNA引物便被降解，在子链5'端就留下了一段空缺。



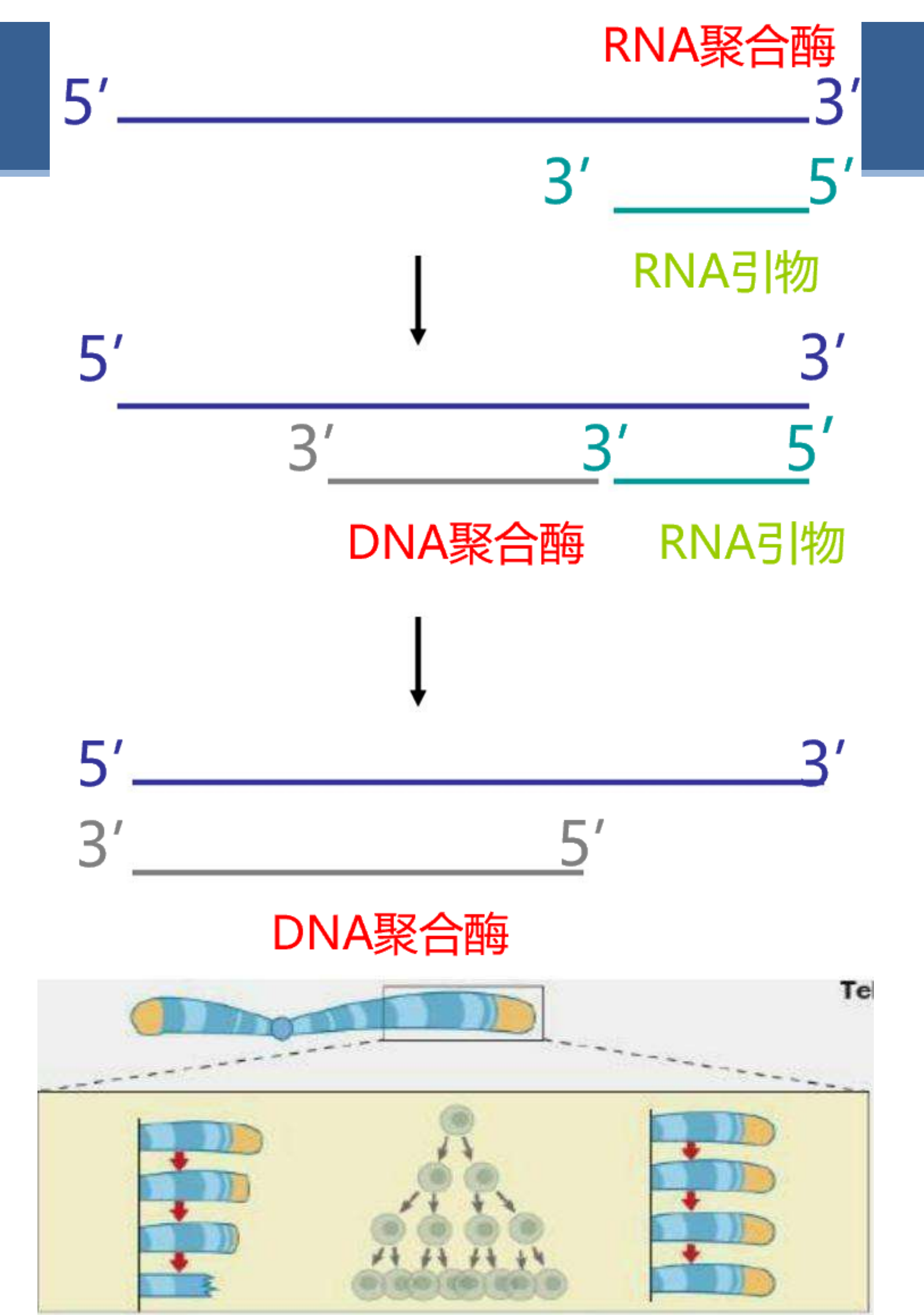
二、染色体的功能元件

➢ DNA的复制：

- 任何DNA聚合酶都不能从线性DNA 5′端起始合成DNA，而只能从3′-OH端使DNA链延长。

- 这样，随着细胞的分裂，DNA每复制一次，母链3′端的那段DNA无法拷贝到子链中去，势必造成DNA子链越来越短。

- 这就是由Watson提出的线性DNA末端复制的难题。



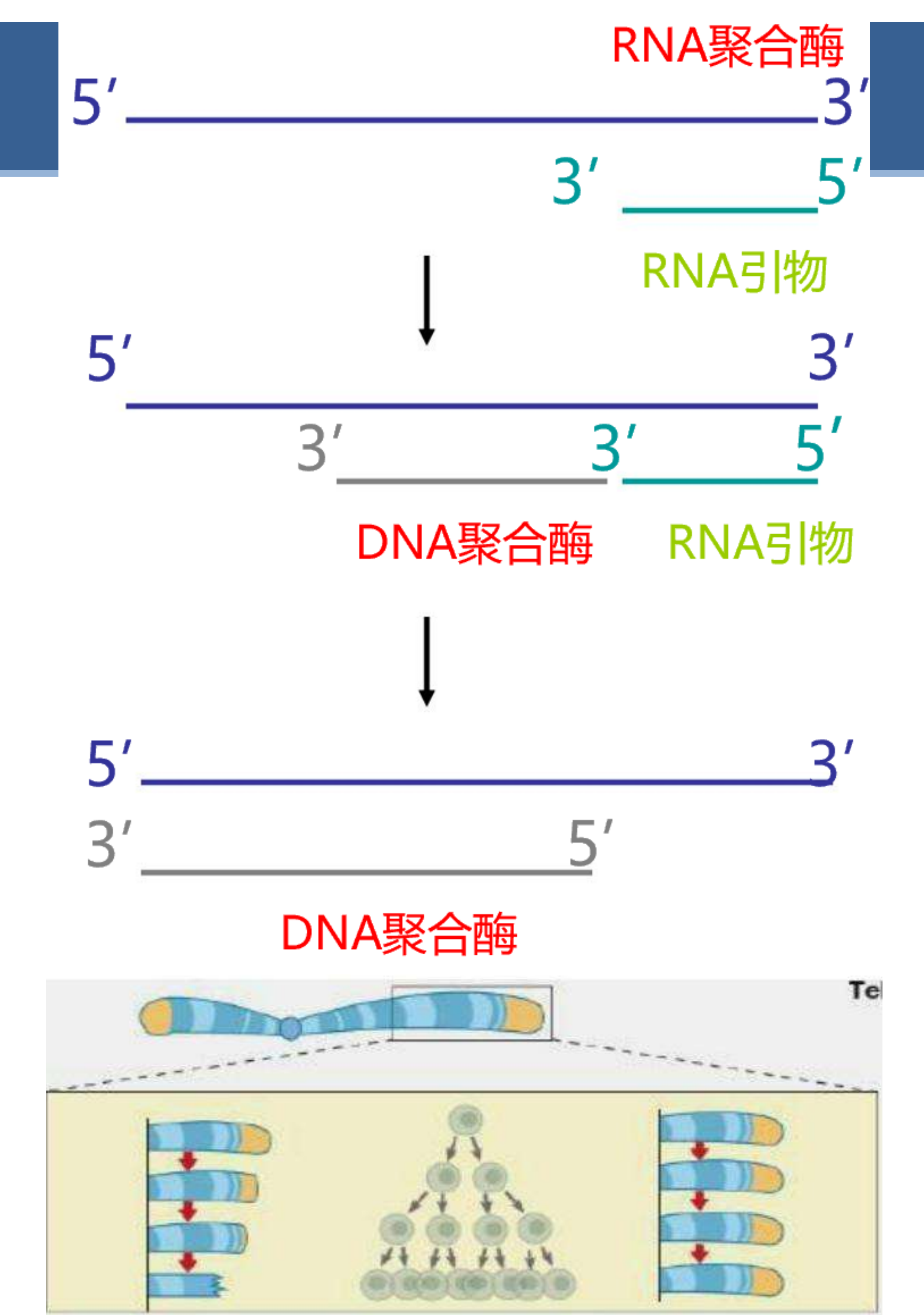
二、染色体的功能元件

➢ DNA的复制：

- 原核生物的环形DNA不存在一问题。

- 真核生物的染色体DNA都是线性DNA，他们通过什么机制达到完全复制的?

- 真核细胞对这一问题的解决，是依赖于每条染色体的末端即端粒，进化形成了特殊的端粒DNA序列和端粒酶。



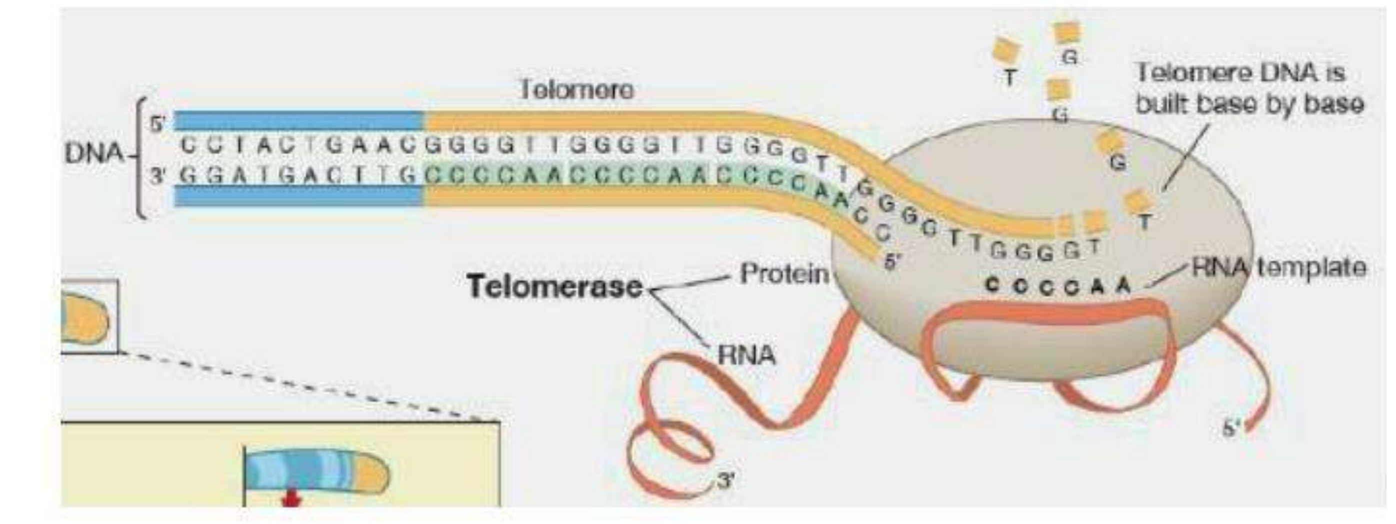
二、染色体的功能元件

（三）端粒DNA序列

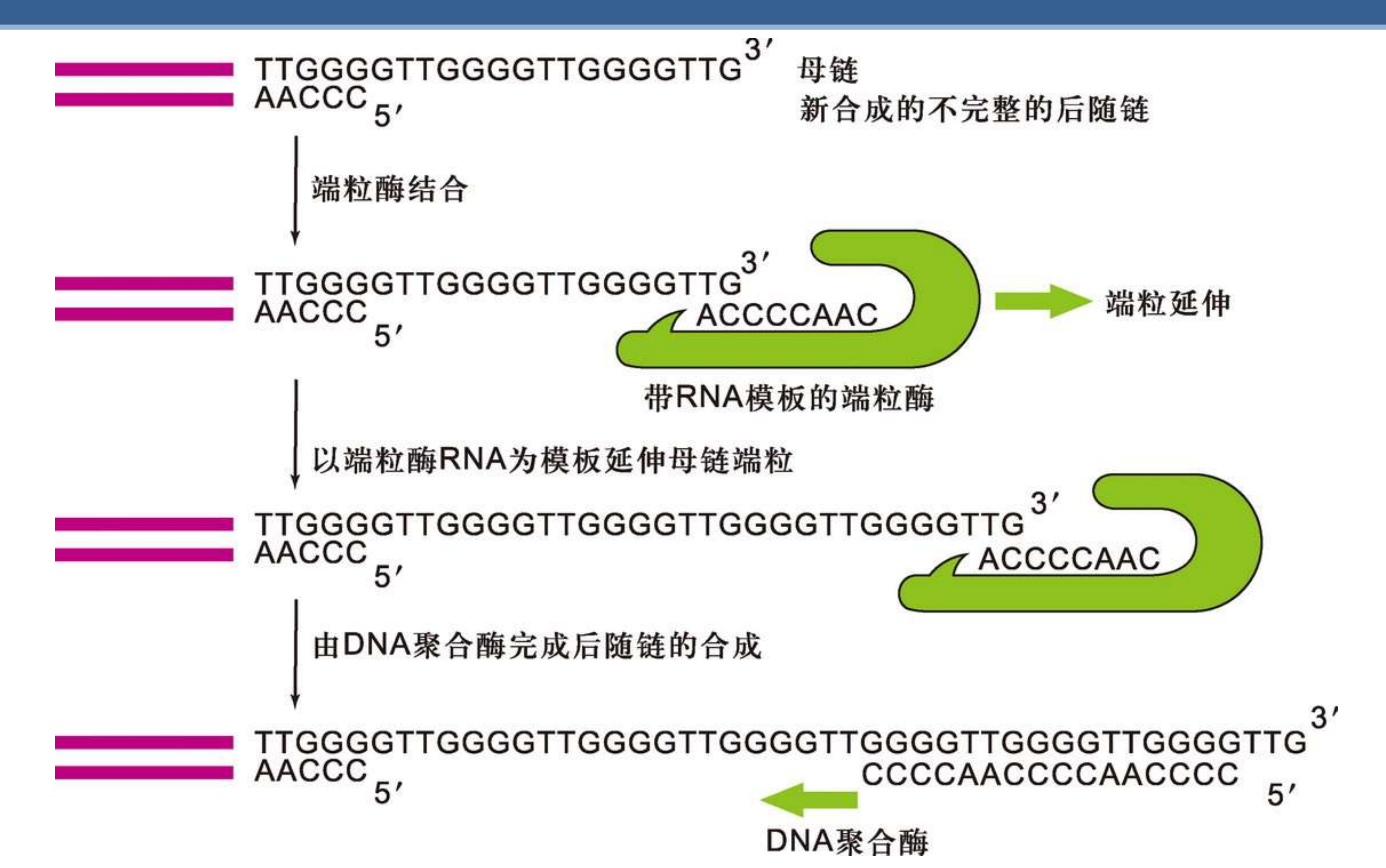
- 由短的、富含G-C、串联重复DNA序列构成

➢ 端粒酶

- 是一种由RNA和蛋白质构成的核糖核蛋白复合物。
- 依靠其RNA序列，端粒酶能特异识别和结合端粒DNA序列；
- <u>具有反转录酶的性质，</u>能以RNA序列为模板，反转录染色体3′端的端粒DNA序列。



端粒酶



TTGGGGTTGGGGTTGGGGTTG 3′
AACCC 5′
母链
新合成的不完整的后随链
端粒酶结合
TTGGGGTTGGGGTTGGGGTTG 3′
AACCC 5′
ACCCCAAC
端粒延伸
带RNA模板的端粒酶
以端粒酶RNA为模板延伸母链端粒
TTGGGGTTGGGGTTGGGGTTGGGGTTGGGGTTG 3′
AACCC 5′
ACCCCAAC
由DNA聚合酶完成后随链的合成
TTGGGGTTGGGGTTGGGGTTGGGGTTGGGGTTGGGGTTGGGGTTG 3′
AACCC 5′
CCCCAACCCCAACCCC 5′
DNA聚合酶

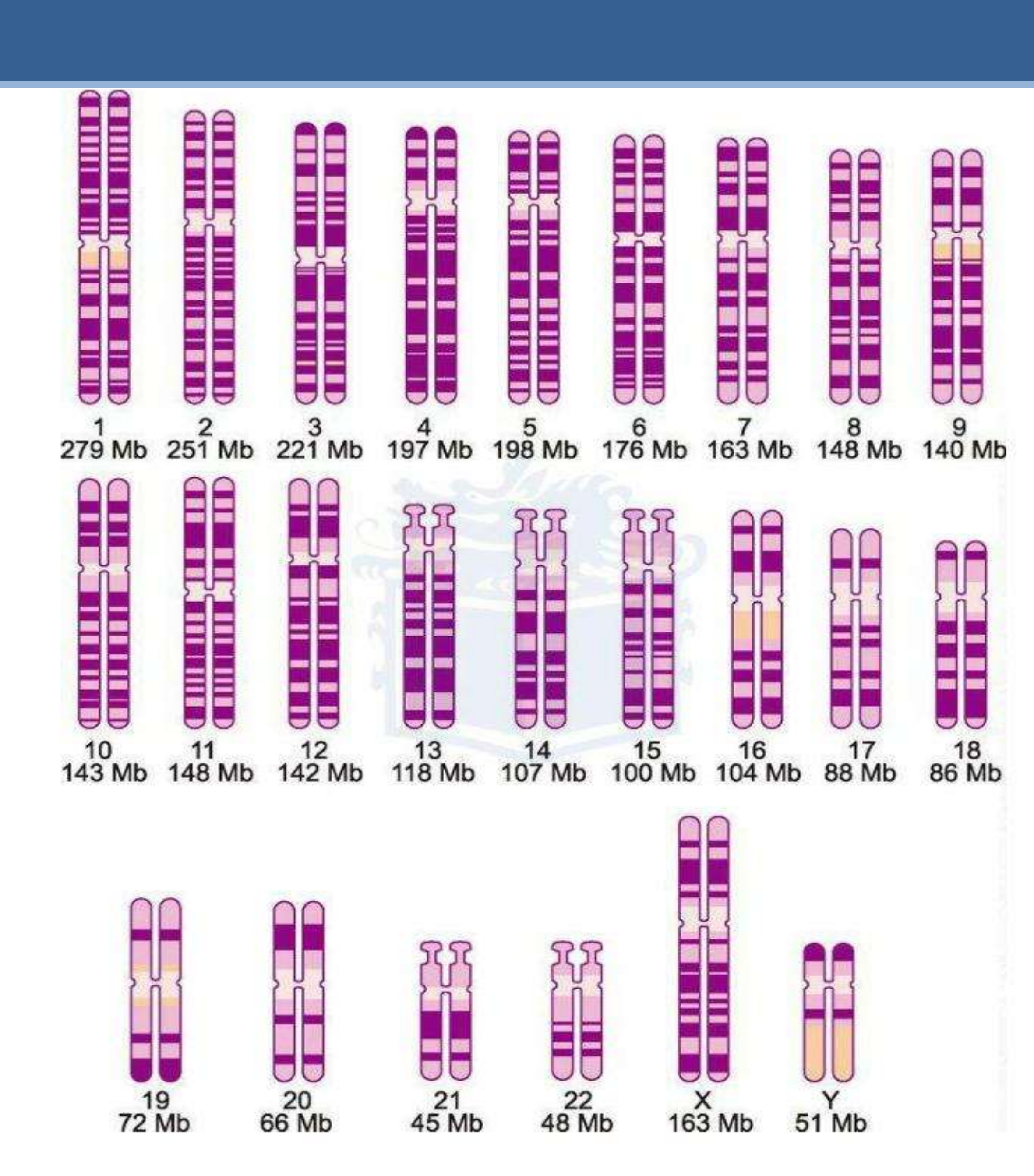
二、染色体的功能元件

- 但是，只有生殖细胞和部分干细胞有端粒酶活性，其子代细胞的遗传信息不会丢失。因而生殖细胞和部分干细胞染色体的末端DNA比体细胞的长几千个bp。
- 因此，端粒在体细胞起到分裂计数器的作用：细胞分裂一次，端粒DNA序列就短一些。
- 肿瘤细胞：为何不受分裂次数限制？为何不衰老?

——有表达端粒酶的能力，故可无限制地增殖。

三、染色体带型

- 核型：指染色体组在有丝分裂中期的表型，包括染色体的数目、大小和形态特征的总和。
- 将一个染色体组的全部染色体按其特征逐个画下来，再按长短、形态、着丝粒位置等特征排列起来的图像称为核型模式图。它代表该物种的核型模式。
- 地球发展的历史记载在地壳中，而生物发展的历史则记载在染色体上，每个物种都有自己特征的核型；
- 因此，对核型的分析研究对于分类学、物种的亲缘关系与进化、人类遗传疾病的机制等都有重要作用。



三、染色体带型

- 对染色体的核型分析依赖于3种染色体制备技术：

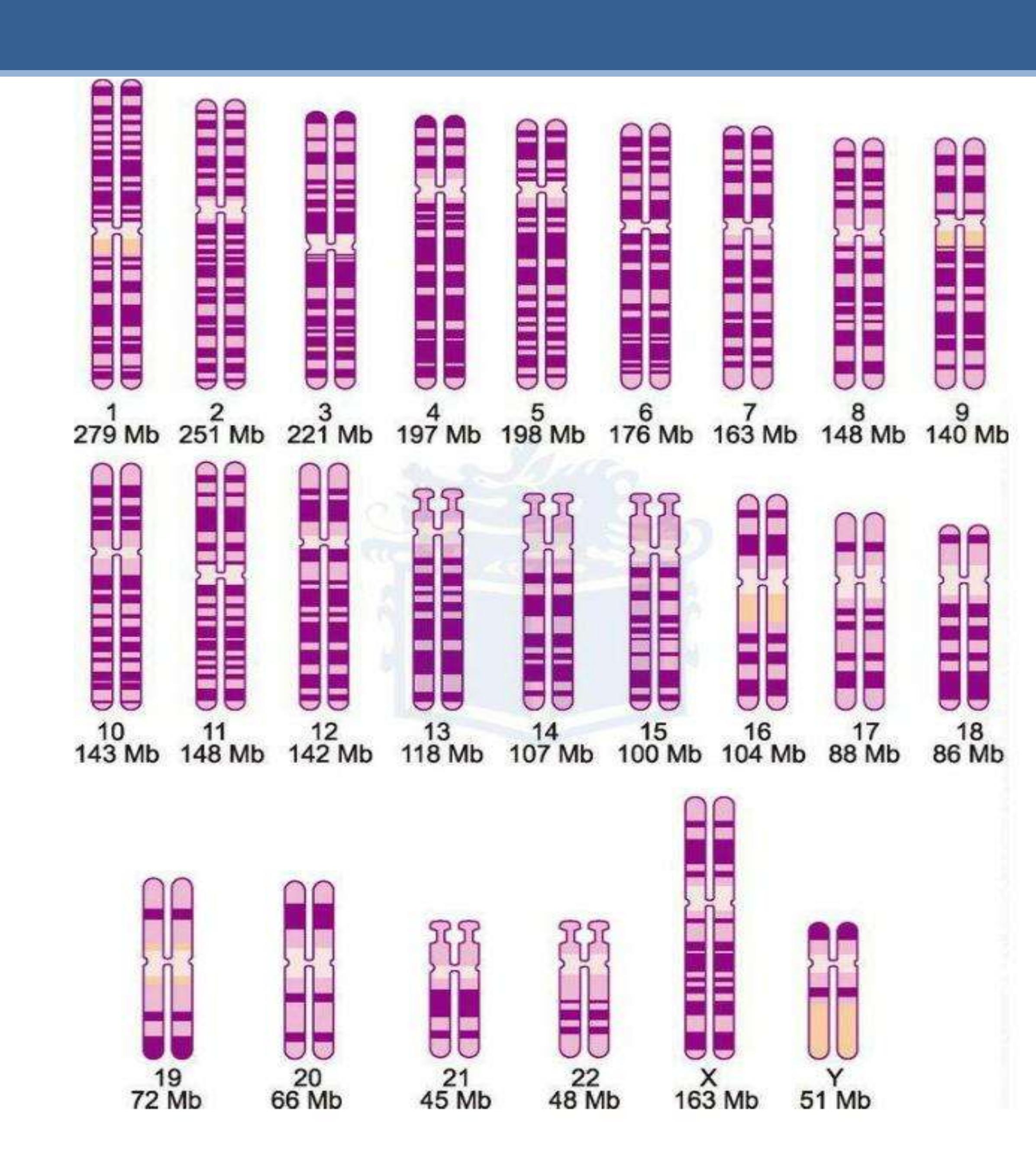
①用低渗溶液处理细胞——使中期细胞的染色体分散良好，便于观察；

②用秋水仙素处理细胞——便于富集中期细胞分裂相；

③植物血凝素处理血淋巴细胞——刺激血淋巴细胞转化、分裂，使以血培养方法观察动物及人的染色体成为可能。

三、染色体带型

- 染色体显带技术：经物理、化学因素处理后，再用染料对染色体染色，染色体臂上出现明暗相间的横条纹，称之为染色体带。
- 依所用方法及染料的不同，染色体可以显出不同的带来。染色体显带技术包括Q带、G带、R带、C带、T带、N带等技术。
- 正常生物体染色体带的数目、大小和顺序都比较恒定，根据带型分析可以鉴定染色体。
- 染色体显带技术最重要的应用就是鉴别一个核型中的任何一条染色体——核型分析研究的有力工具。



四、特殊染色体

- 包括多线染色体和灯刷染色体。

- 由于它们的体积大，易于观察，因而成为研究染色体结构与功能的绝好材料。

四、特殊染色体

（一）多线染色体

- 主要是存在于双翅目昆虫（如果蝇、蚊子）的幼虫组织细胞内，如唾腺、气管等。
- 多线染色体来源于核内有丝分裂，即核内DNA多次复制而细胞不分裂，产生众多的DNA链，它们并行排列，并且同源染色体配对，合并成一个染色体，从而构成了巨大的多线染色体。

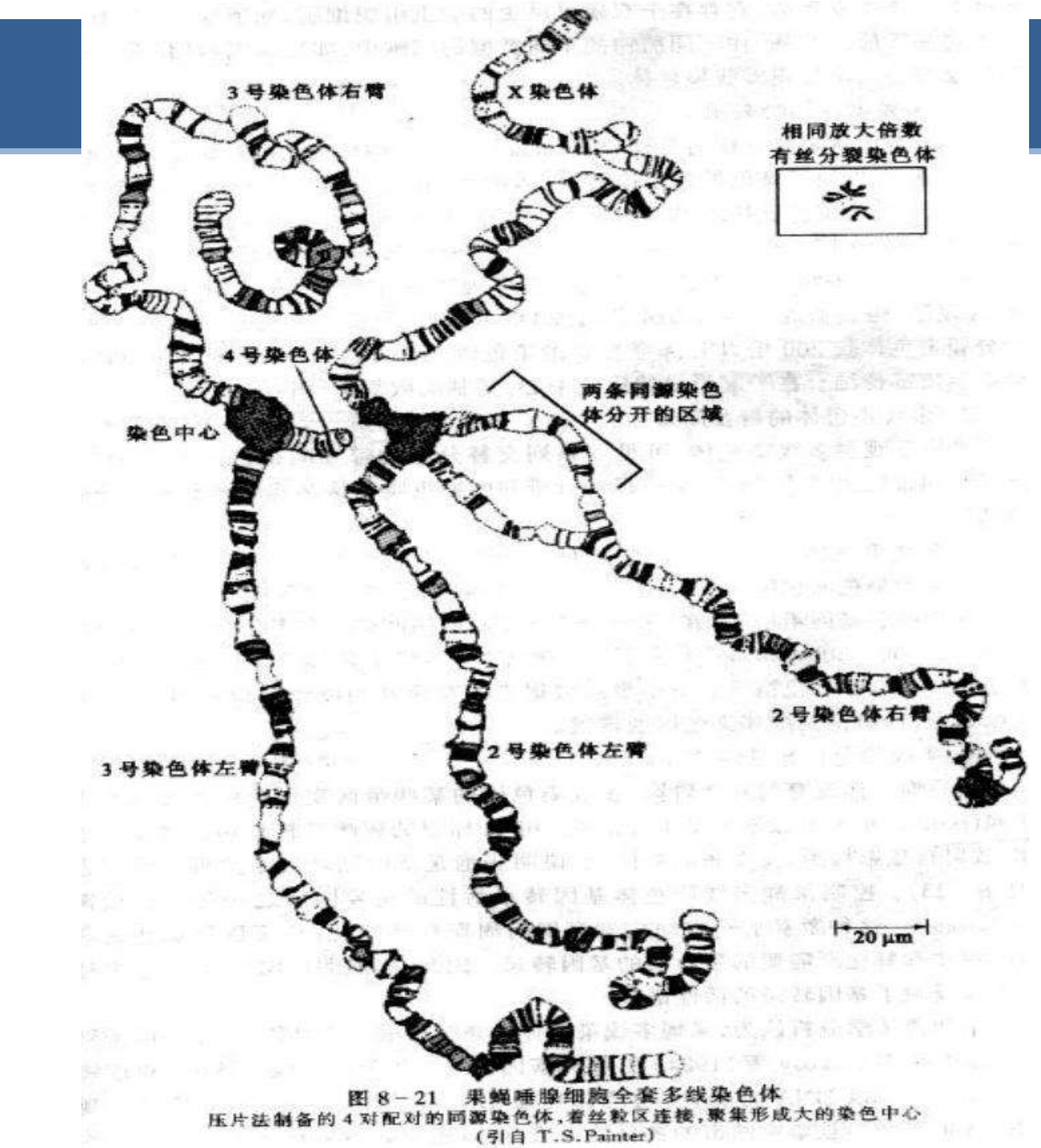


图 8－21　果蝇唾腺细胞全套多线染色体
压片法制备的4对配对的同源染色体，着丝粒区连接，聚集形成大的染色中心
（引自 T.S.Painter）

四、特殊染色体

- 如，在果蝇唾腺细胞中，DNA进行10次复制，因而形成了2^{10} = 1024条DNA拷贝，它们并行排列形成多线染色体，比同种正常的有丝分裂染色体长200倍以上。

- 多线化的细胞处于永久间期，并且体积也相应增大。

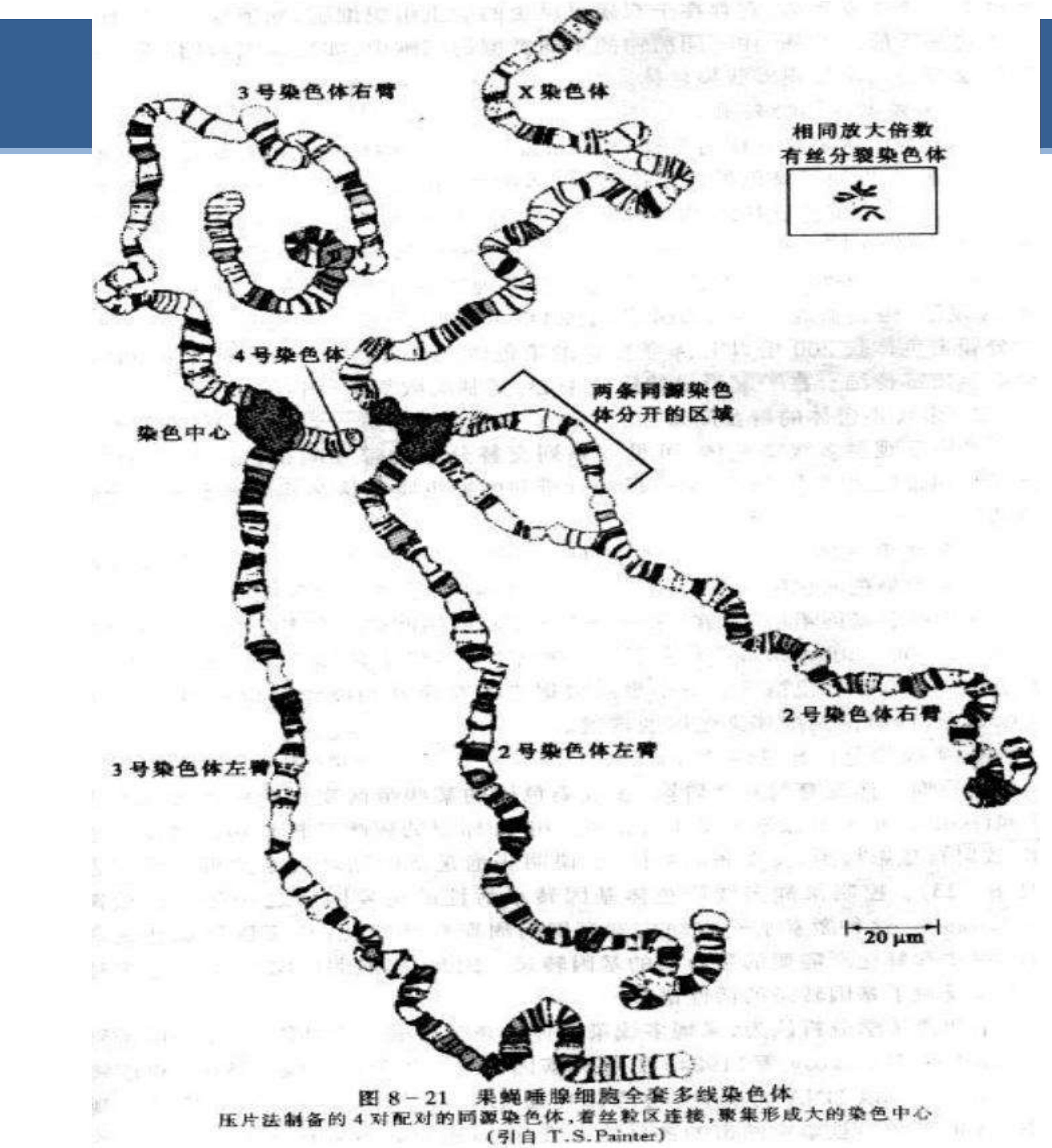


图 8－21　果蝇唾腺细胞全套多线染色体
压片法制备的4对配对的同源染色体，着丝粒区连接，聚集形成大的染色中心
(引自 T.S.Painter)

四、特殊染色体

（二）灯刷染色体

- 灯刷染色体几乎普遍存在于动物界的卵母细胞中。
- 灯刷染色体是卵母细胞进行减Ⅰ前期停留在双线期的染色体。
- 它由2条同源染色体形成，此时同源染色体尚未完全解除联会，因此可见到几处交叉。

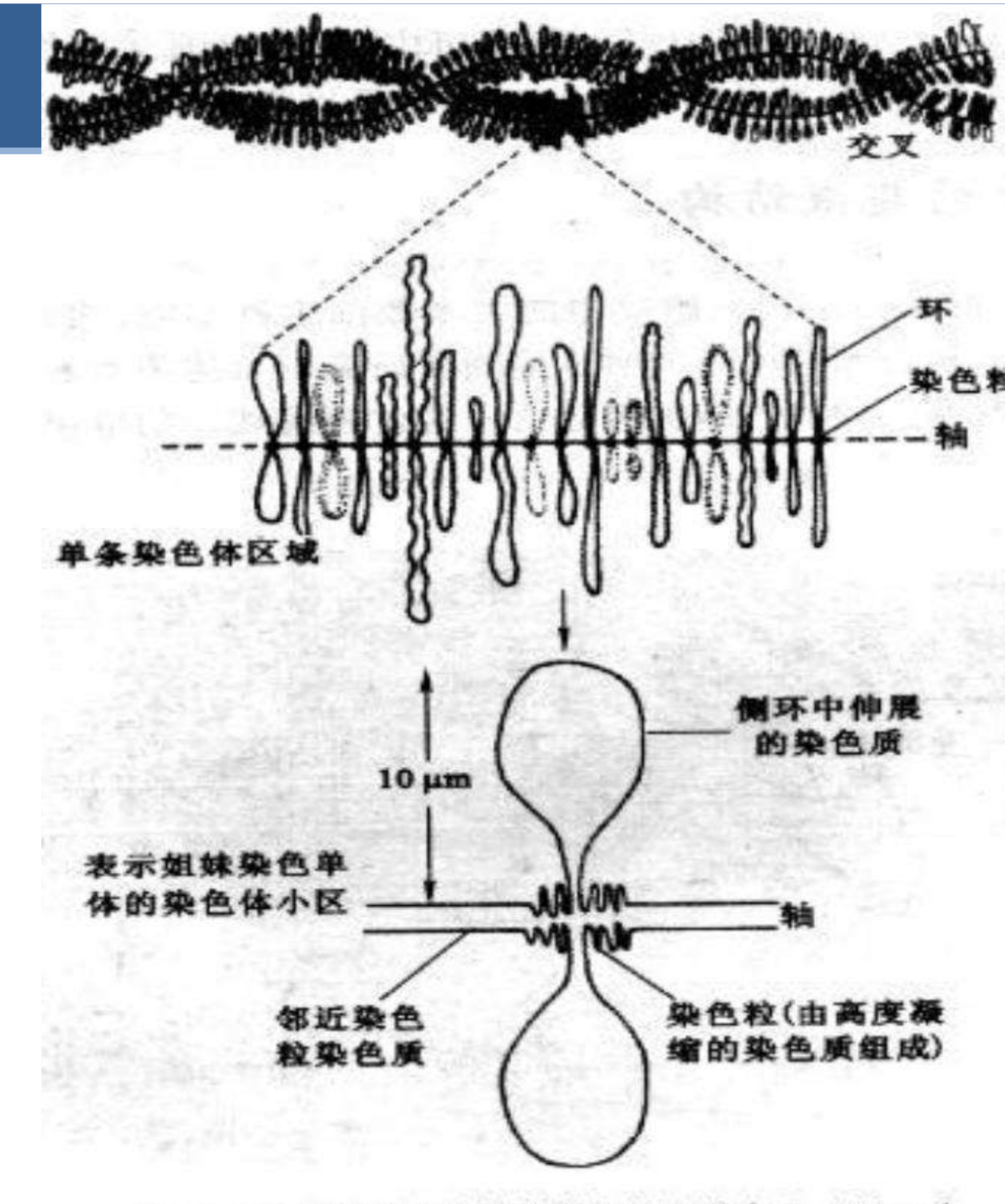
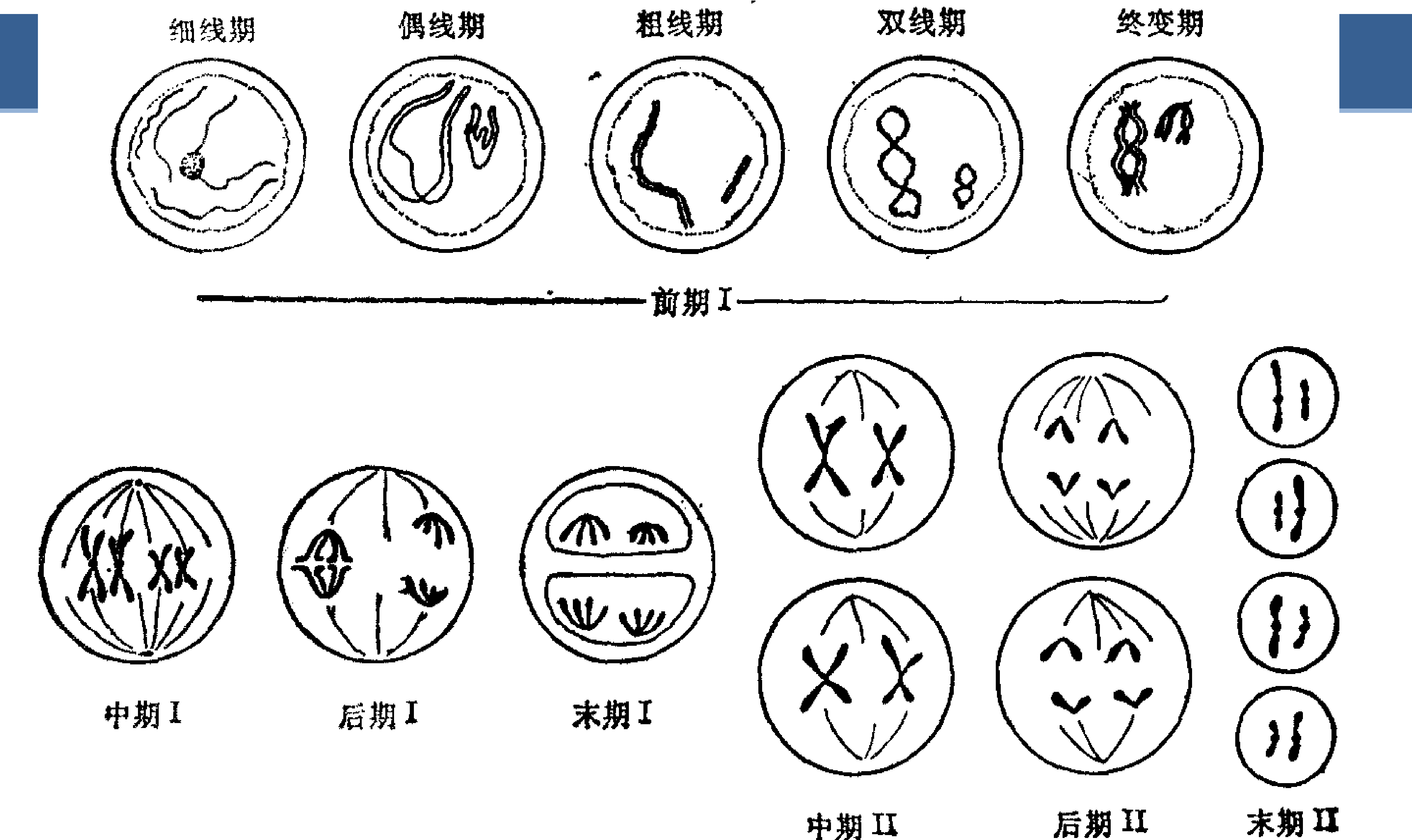


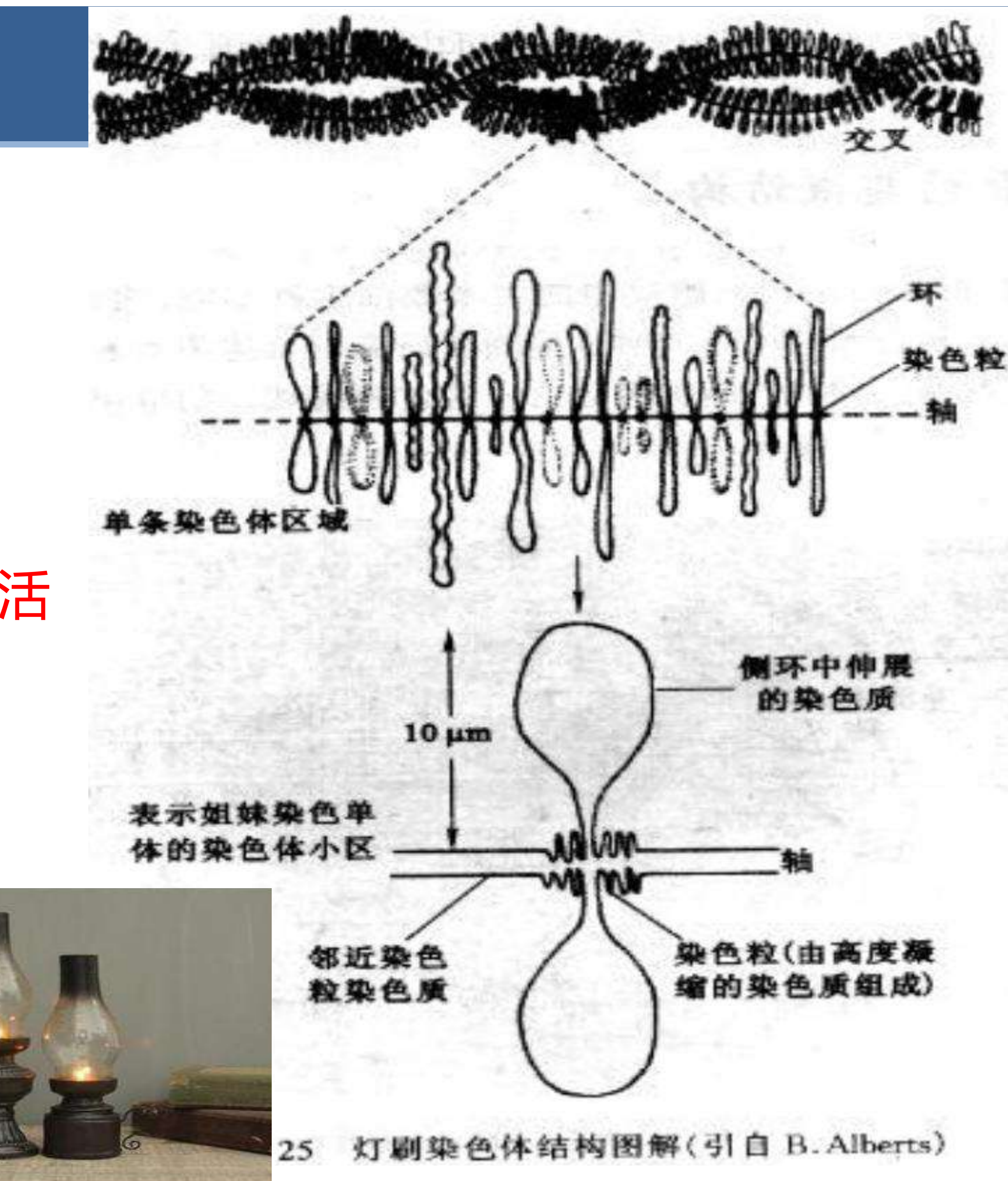
图 8－25　灯刷染色体结构图解(引自 B.Alberts)



细线期
偶线期
粗线期
双线期
终变期
前期 I
中期 I
后期 I
末期 I
中期 II
后期 II
末期 II

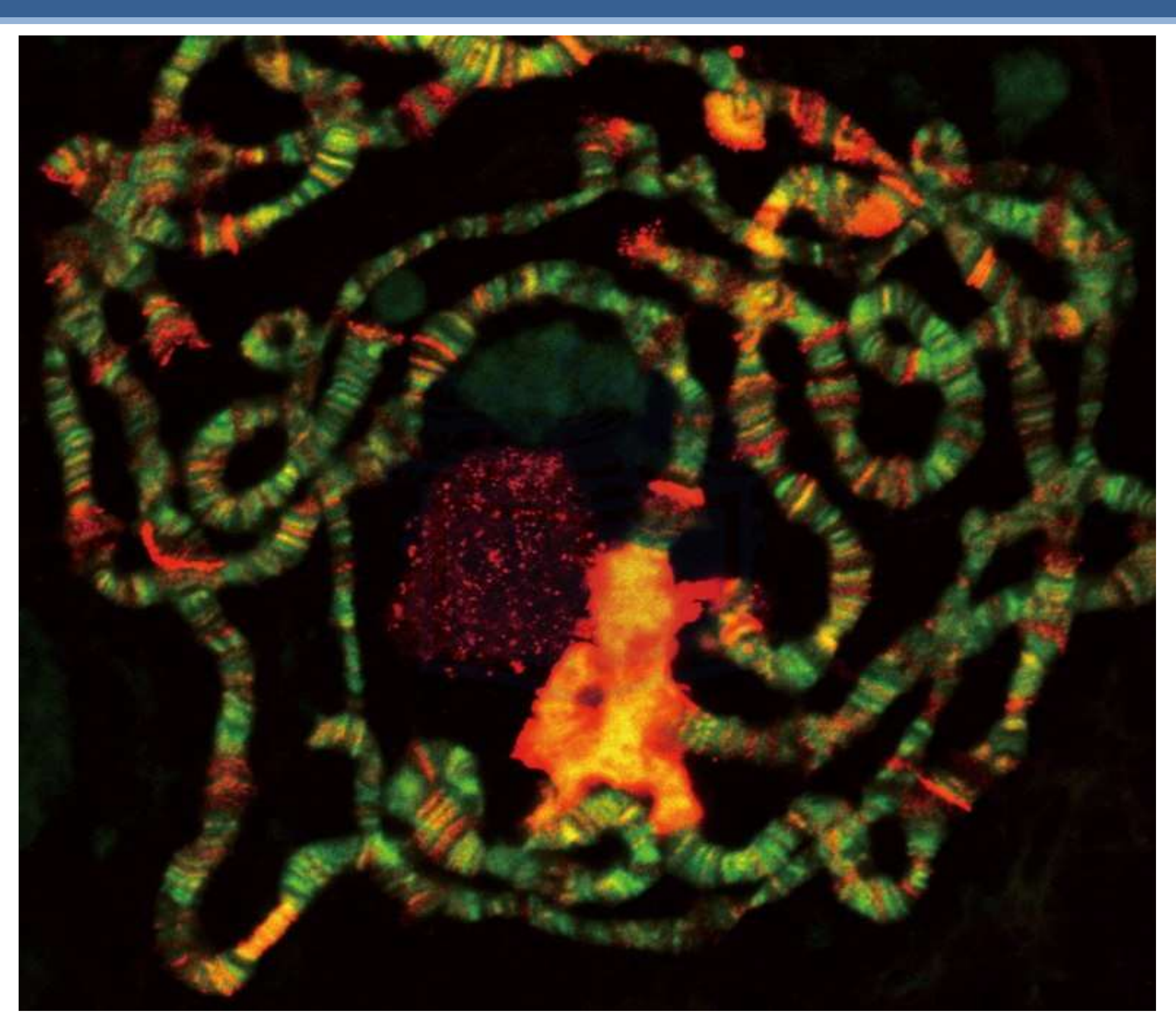
四、特殊染色体

- 灯刷染色体的主轴由染色粒和轴丝构成。
- **染色粒由高度聚缩的染色质组成；各染色粒之间为不高度聚缩的轴丝。**
- 从染色粒向外延伸出侧环，它是RNA转录活跃的区域，（大部分DNA以染色粒形式存在，没有转录活性。）是灯刷染色体的重要标志。
- 由于侧环的出现，使染色体类似灯刷或试管刷，故名灯刷染色体。



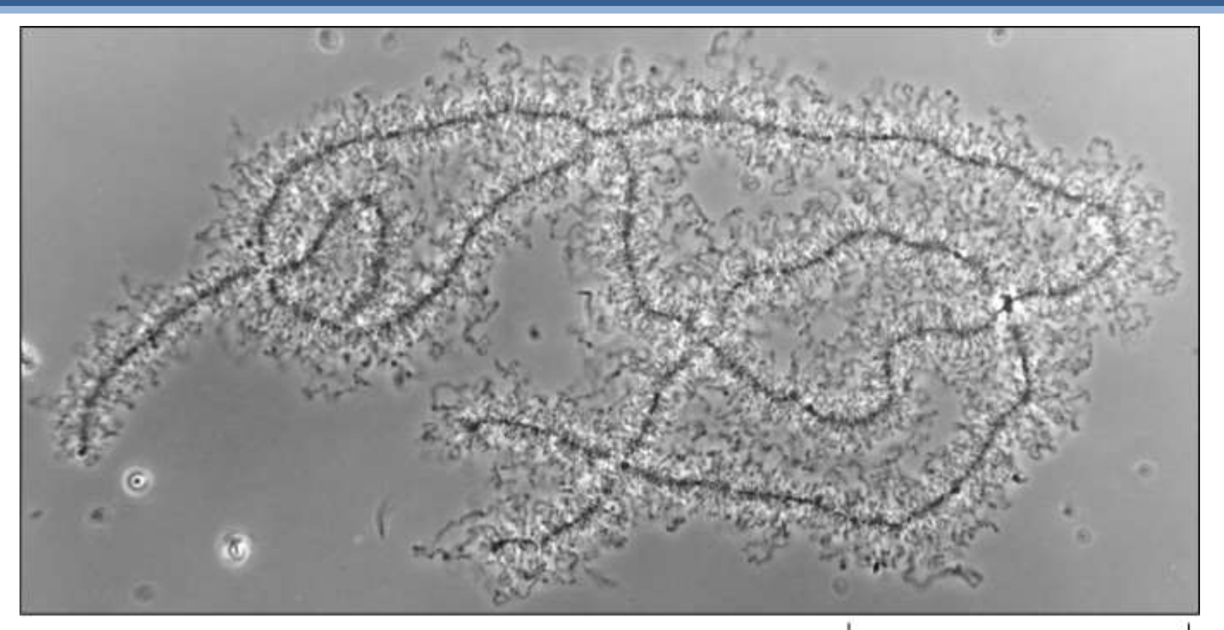
25　灯刷染色体结构图解(引自 B.Alberts)

四、特殊染色体——多线染色体

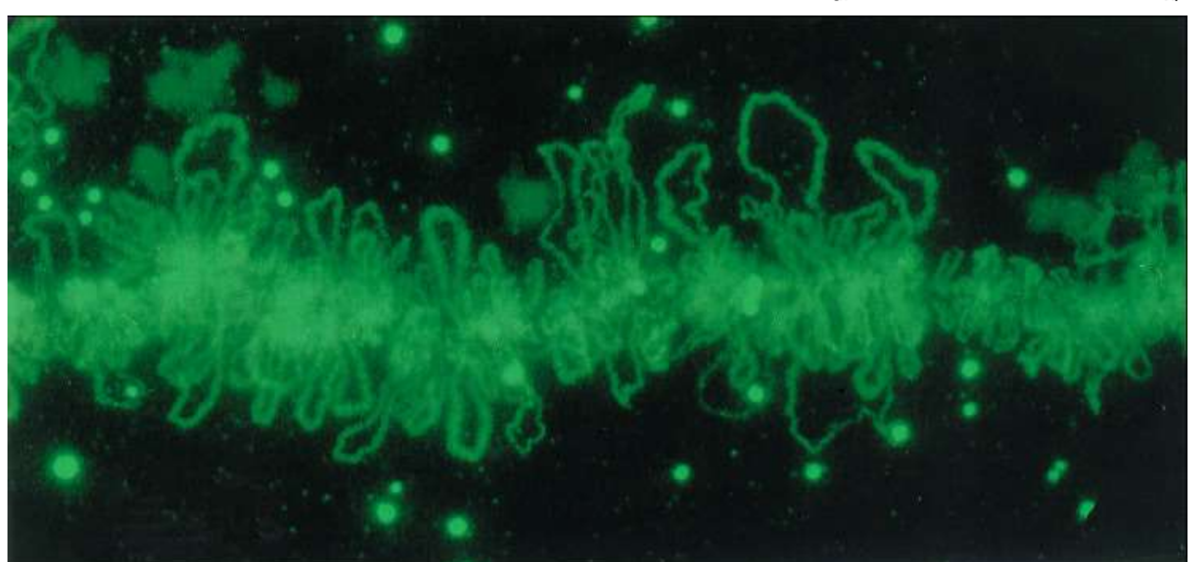


果蝇唾涎细胞中全套多线染色体

四、特殊染色体——灯刷染色体



光镜

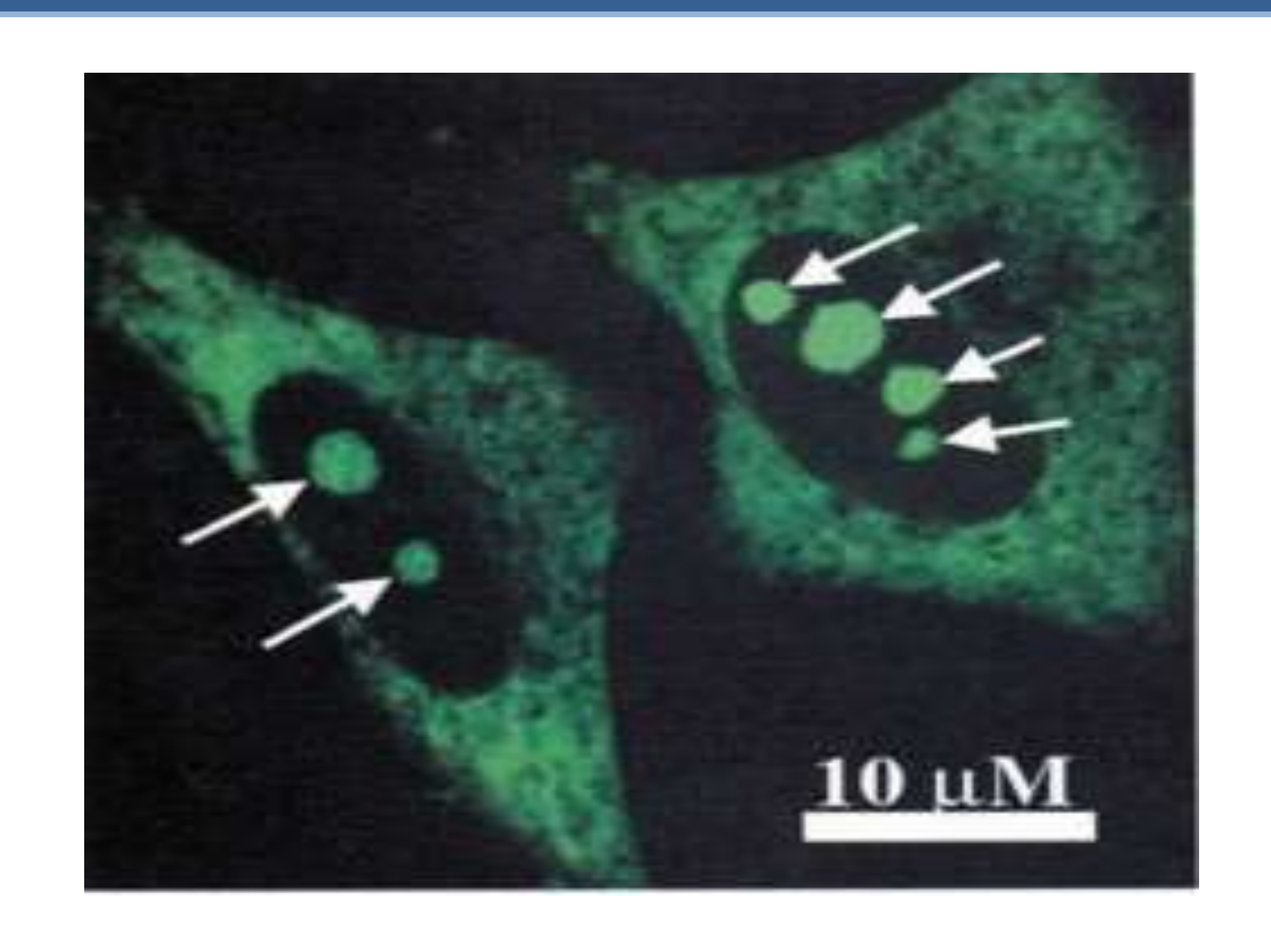


免疫组化

Lampbrush chromosome

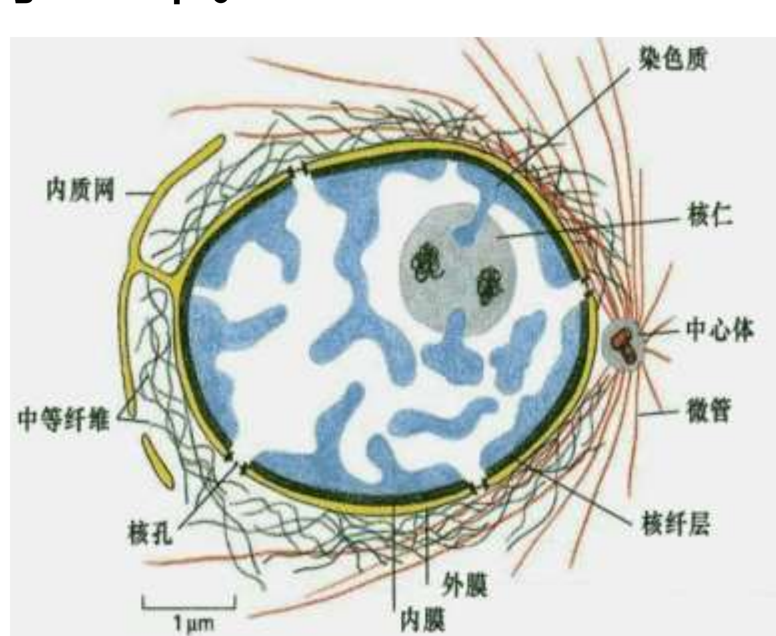
(两栖类卵母细胞中)

第五节 核仁与核体



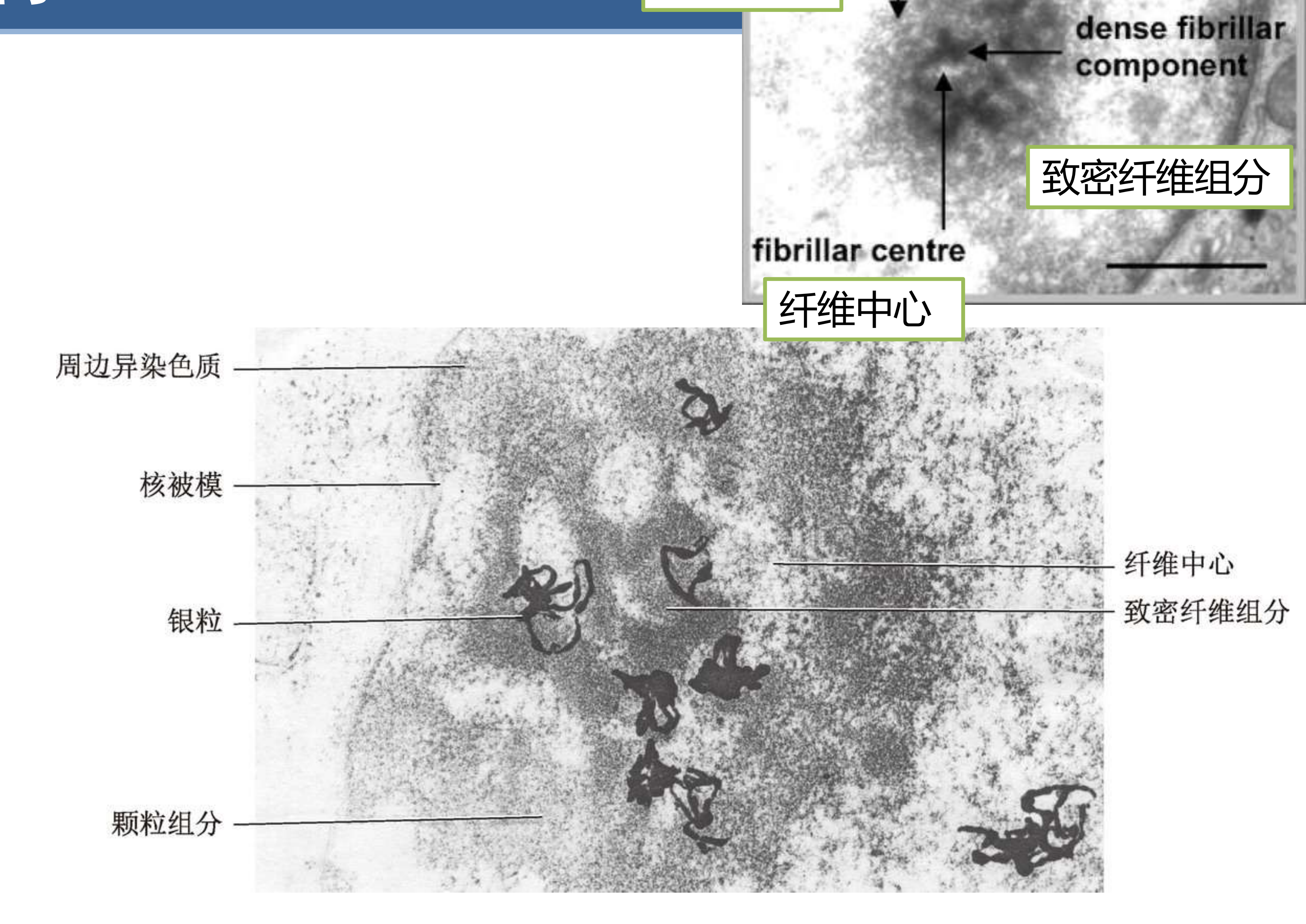
第五节 核仁与核体

- 核仁见于细胞核内的圆球状结构，大小、形状、数目随物种、细胞类型和代谢状态而变，在蛋白质合成旺盛和分裂增殖较快的细胞中有较大和较多的核仁，反之核仁很小或缺失。
- 真核细胞间期核中最显著的结构，核仁在分裂前期消失，分裂末期又重新出现。
- 核细胞间期核中最明显的结构，通常为均质的球体，一般有1-2个。



一、核仁的结构

- **纤维中心**
- **致密纤维组分**
- **颗粒组分**



一、核仁的结构

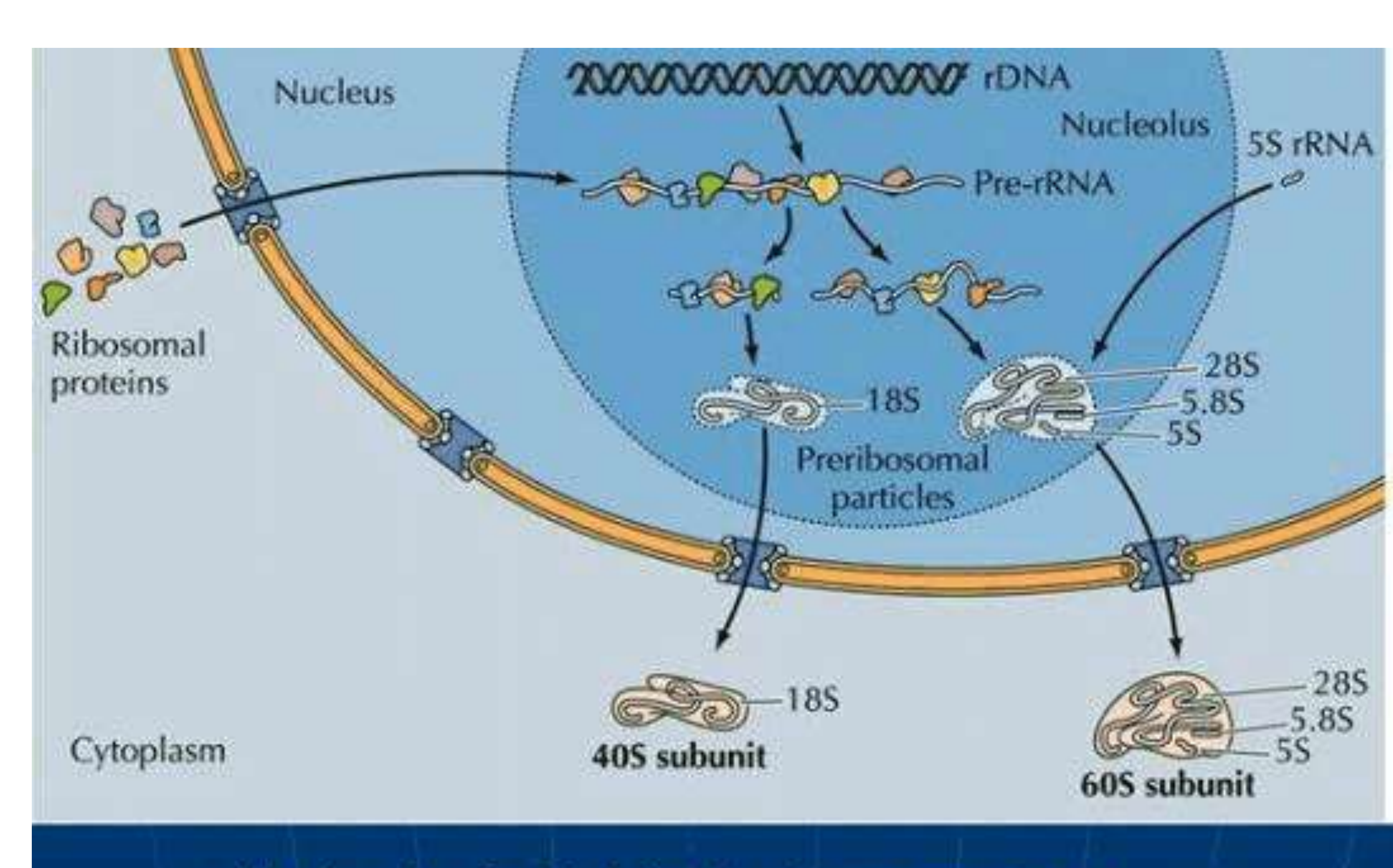
- **纤维中心(fibrillar centers，FC)：**位于核仁内部，为一个或几个浅染的、电子密度低的圆形结构。主要成分为RNA聚合酶Ⅰ、rDNA(核糖体DNA)等。
- **致密纤维组分(dense fibrillar component，DFC)：**呈环形或半月形包围FC，由致密的纤维构成，是**新合成的rRNA和特异性结合蛋白**，转录主要发生在FC与DFC的交界处（银粒处）。
- **颗粒组分(granular component，GC)：**）是核仁的主要结构，是正在加工、成熟的核糖体亚基前体颗粒。

(银粒示rRNA 转录部位)

二、核仁的功能

- 核仁与**核糖体的生物发生**有关：进行rRNA的合成（转录）、加工和核糖体亚基的装配。

- 28S、18S和5.8S rRNA的基因（rDNA）位于核仁内，它们结合在一起组成一个转录单位，在此转录出rRNA前体。



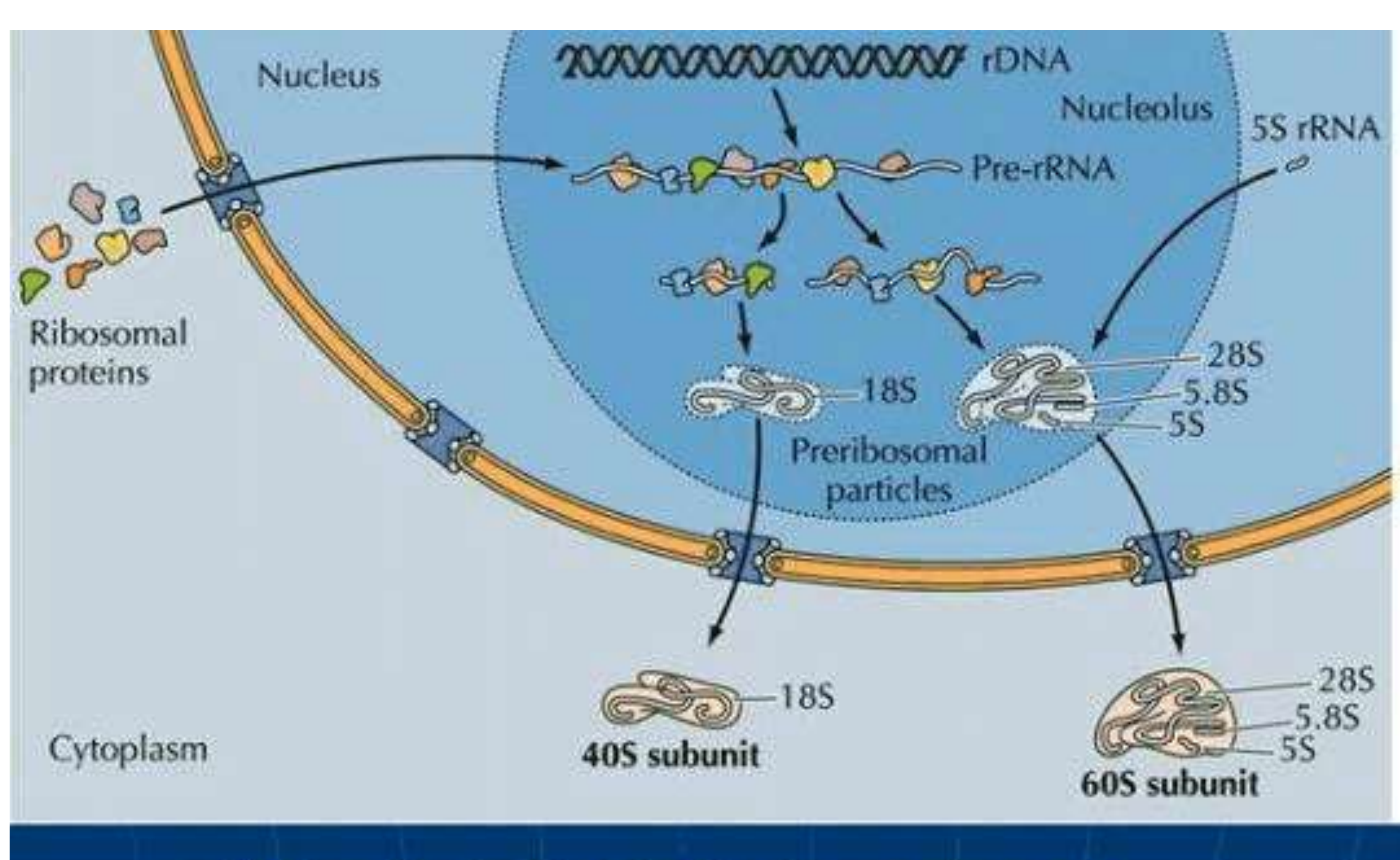
核仁生产核糖体过程示意图

二、核仁的功能

- rRNA前体与在细胞质基质合成后进入核仁的核糖体蛋白质结合，**形成核糖核蛋白（RNP）复合体**。

- 经过一系列的加工过程形成18S、28S、5.8S rRNA，再与在核仁外转录的5S rRNA构成核糖体小、大亚基的前体；

- 最后在核仁中成熟、组装成核糖体小、大亚基，通过核孔复合物转运到细胞质。

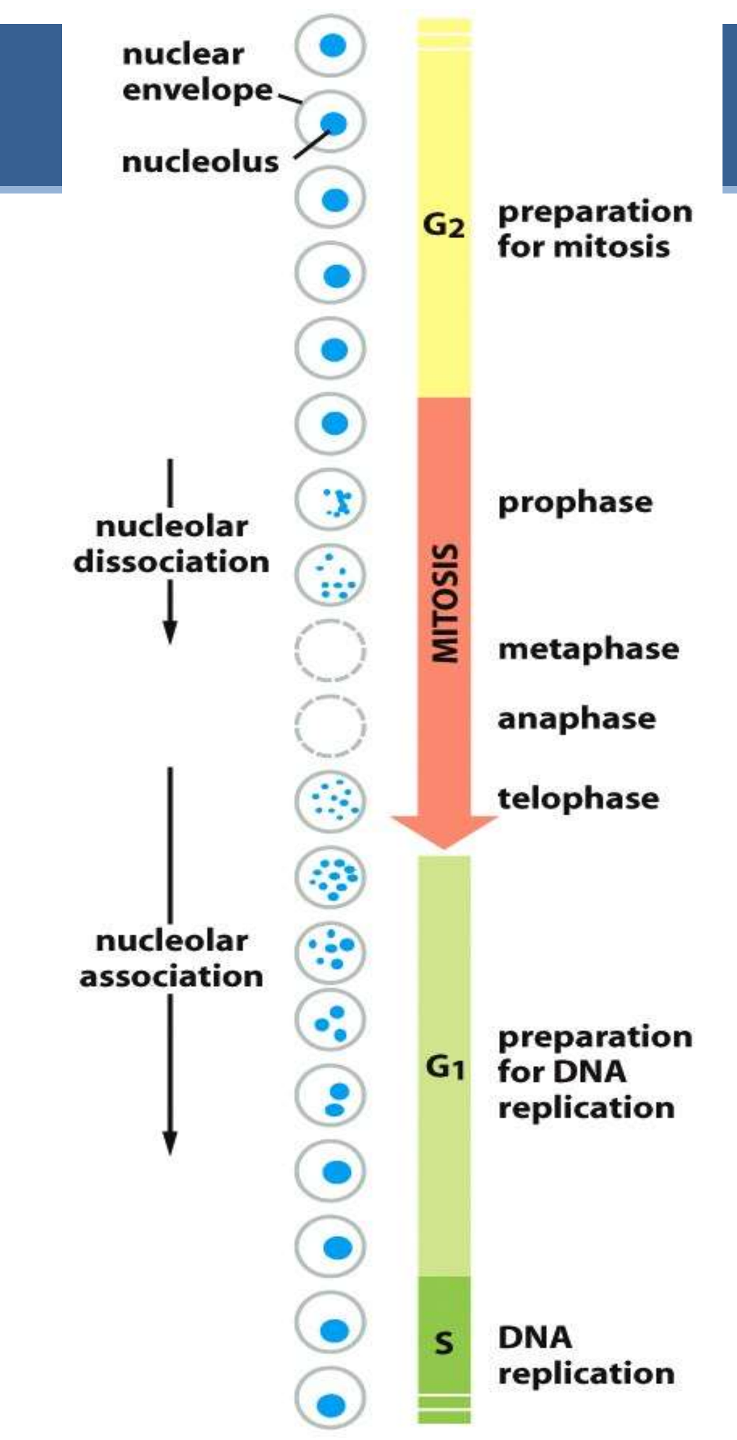


核仁生产核糖体过程示意图

三、核仁的动态周期变化

细胞周期中核仁是高度动态的结构，

有丝分裂前期末核仁解体，末期核仁开始重建。

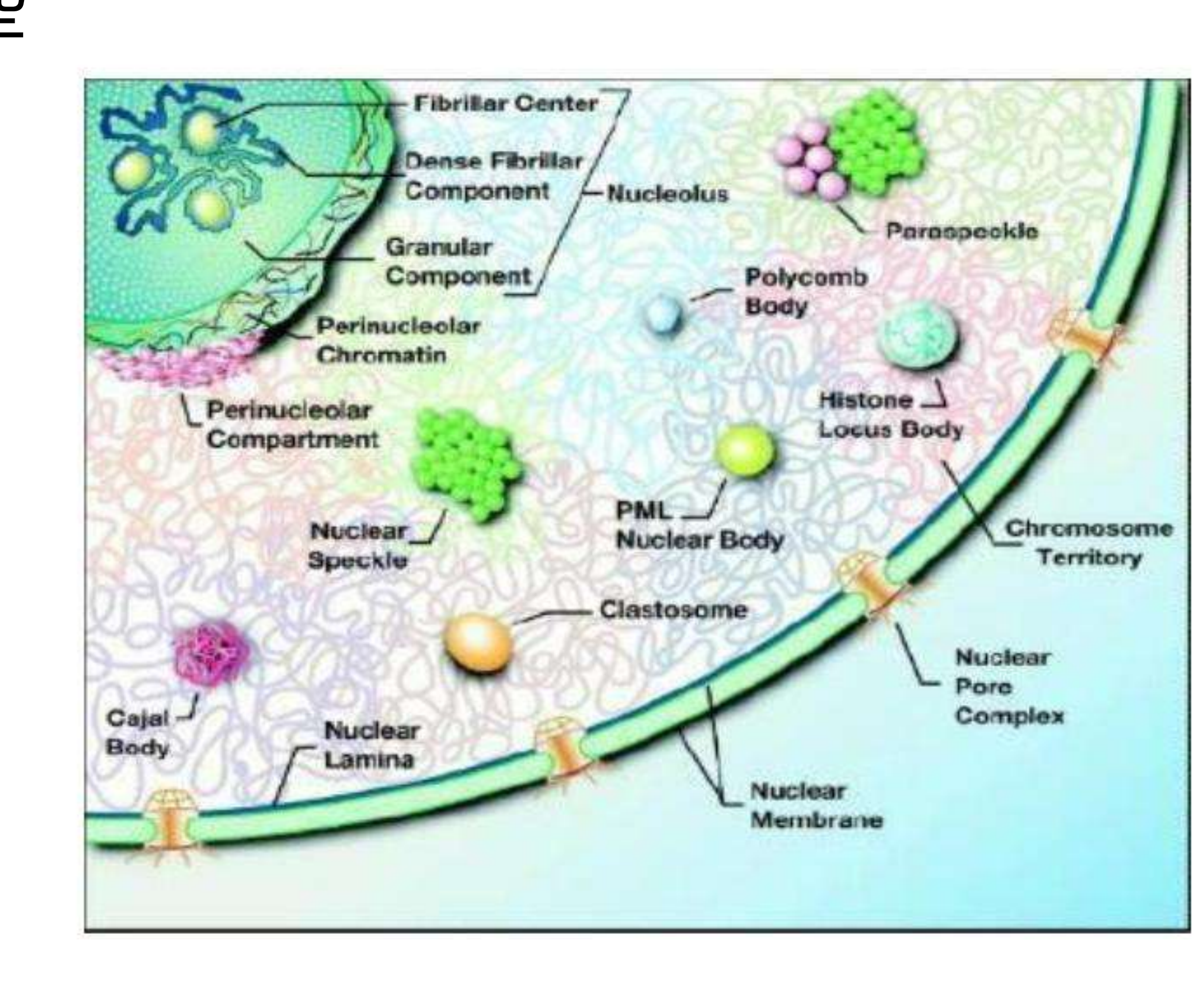


四、核体

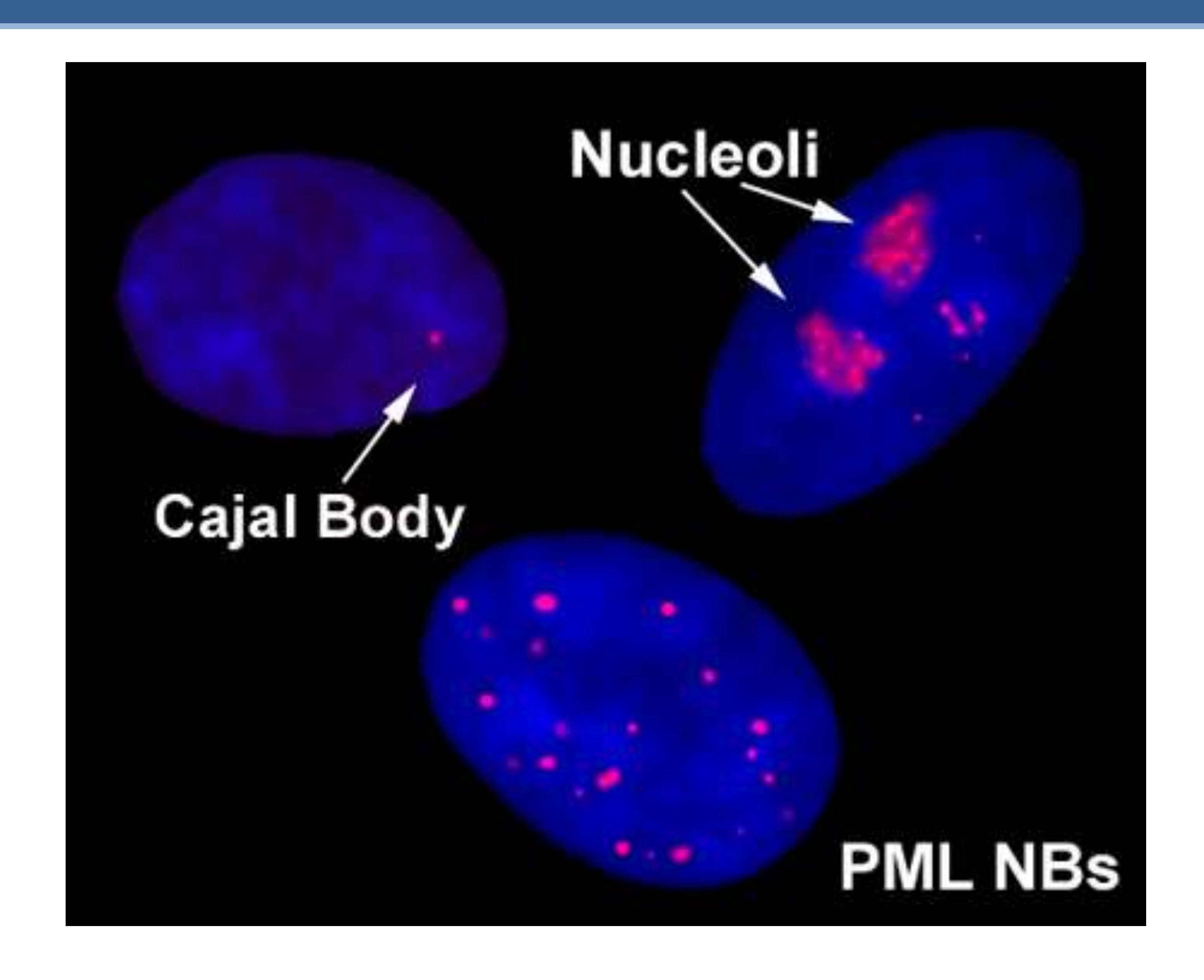
- 除核仁外，细胞核里还存在其他一些核体结构：卡哈尔体（Cajal）小体，GEMS，染色质间颗粒等。

- 这些核体没有膜包绕，并且是高度动态变化的。

- 核体的出现可能是蛋白质和RNA（也许还有DNA）相互作用的结果。

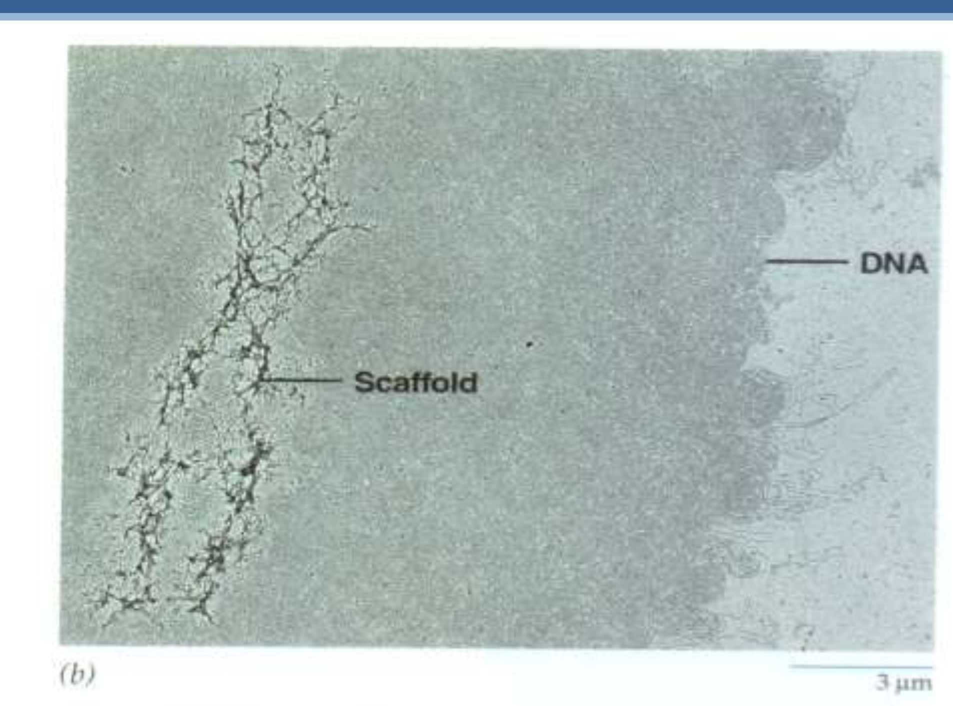


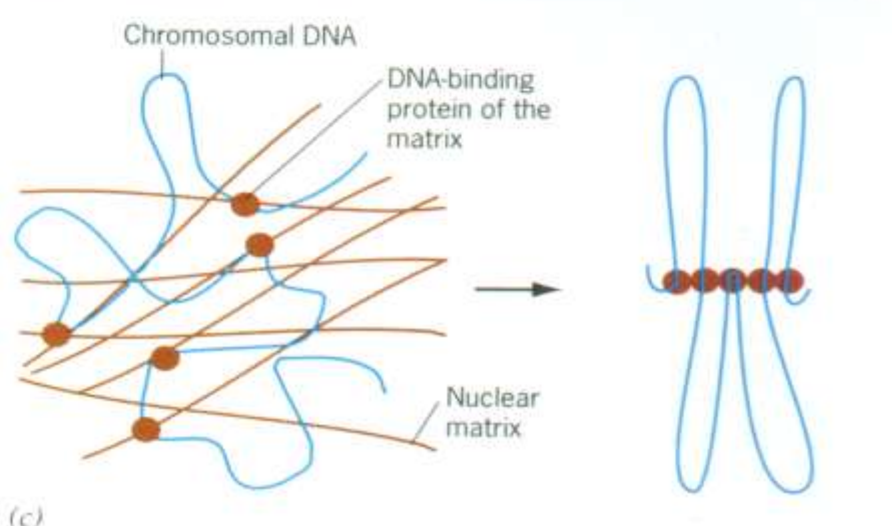
四、核体



第六节 核基质

- 在真核细胞的间期核中除了核被膜、染色质和核仁外，还有一个以蛋白质为主要成分的网络结构体系——核基质（nuclear matrix），因为它的基本形态与胞质骨架很相似，又与胞质骨架体系有一定的联系，因此又称为核骨架（chromosome scaffold）。
- 核基质与DNA复制、基因表达以及染色体包装和构建有密切的关系。





本章小结

- 核被膜生物学意义：一方面构成核、质之间的天然选择性屏障；另一方面介导核质之间的物质交换与信息交流 。
- 核孔复合体：1.胞质环；2.核质环；3.辐；4.中央栓。
- NPC的功能：核质交换的双向、双功能、选择性亲水性通道。
- 核小体结构要点
- 染色质组装模型：多级螺旋模型

本章小结

- 着丝粒的结构：1、动粒结构域；2、中央结构域；3、配对结构域
- 染色体DNA的功能元件：1. DNA复制起点 - 自主复制DNA序列；2.着丝粒 - 着丝粒DNA序列；3.端粒 - 端粒DNA序列。
- 巨大染色体：多线染色体；灯刷染色体。
- 核仁超微结构：1、纤维中心；2、致密纤维组分；3、颗粒组分
- 核仁的功能：rRNA的合成、加工和核糖体亚单位的装配。 mRNA的输出和降解

